Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
Kaiserin Auguste Viktoria Haus
Geschäftsführender ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. Helge

DER EINFLUSS VON HÄMATOMEN AUF DIE SERUMBILIRUBINKONZENTRATION BEI JUNGEN GUNN-RATTEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von:

Angelika Sasse

aus Berlin

1985

Druck: Copy-Center in Dahlem
Ladenbergstraße 2-4
1000 Berlin 33
Tel. 831 40 25

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
Kaiserin Auguste Viktoria Haus
Geschäftsführender ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. Helge

DER EINFLUSS VON HÄMATOMEN AUF DIE SERUMBILIRUBINKONZENTRATION BEI JUNGEN GUNN-RATTEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von: Angelika Sasse
aus: Berlin

Referent: Professor Dr.med. Dr.rer.nat. Günther Wiese
Korreferent: Prof. Dr. Eckhard Oberdisse

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 10.12.1985

INHALTSÜBERSICHT

1. EINLEITUNG
1.1 Problemstellung 4
1.2 Abgrenzung des physiologischen Icterus neonatorum simplex von der pathologischen Hyperbilirubinämie . . 5
1.3 Die Hyperbilirubinämie infolge Resorption von Hämatomen 6
1.4 Die Pathophysiologie des Bilirubins 18
1.5 Der Abbau von Hämatomen 20

2. MATERIAL UND METHODE
2.1 Die Gunn-Ratte als Tiermodell 23
2.2 Versuchsdurchführung 26

3. ERGEBNISSE DER VERSUCHE
3.1 Ergebnisse der Versuche 1 bis 10 33
3.2 Ergebnisse des Versuches 11 51
3.3 Ergebnisse der Kontrollversuche 13 bis 20 51
3.4 Ergebnisse des Versuches 12 (Nüchternversuch) 52
3.5 Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen 54

4. AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE
4.1 Entwicklung des pharmakokinetischen Modells 58
4.2 Pharmakokinetische Auswertung der Versuchsergebnisse 67

5. DISKUSSION
5.1 Diskussion der Ergebnisse 85
5.2 Klinische Relevanz der Ergebnisse 92

6. ZUSAMMENFASSUNG 95

7. LITERATURVERZEICHNIS 97

8. ANHANG 109

Referent: Professor Dr.med. Dr.rer.nat. Günther Wiese

Korreferent: Prof. Dr. Eckhard Oberdisse

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 10.12.1985

INHALTSÜBERSICHT

1. EINLEITUNG
1.1 Problemstellung 4
1.2 Abgrenzung des physiologischen Icterus neonatorum simplex von der pathologischen Hyperbilirubinämie . . 5
1.3 Die Hyperbilirubinämie infolge Resorption von Hämatomen 6
1.4 Die Pathophysiologie des Bilirubins 18
1.5 Der Abbau von Hämatomen 20

2. MATERIAL UND METHODE
2.1 Die Gunn-Ratte als Tiermodell 23
2.2 Versuchsdurchführung 26

3. ERGEBNISSE DER VERSUCHE
3.1 Ergebnisse der Versuche 1 bis 10 33
3.2 Ergebnisse des Versuches 11 51
3.3 Ergebnisse der Kontrollversuche 13 bis 20 51
3.4 Ergebnisse des Versuches 12 (Nüchternversuch) 52
3.5 Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen 54

4. AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE
4.1 Entwicklung des pharmakokinetischen Modells 58
4.2 Pharmakokinetische Auswertung der Versuchsergebnisse 67

5. DISKUSSION
5.1 Diskussion der Ergebnisse 85
5.2 Klinische Relevanz der Ergebnisse 92

6. ZUSAMMENFASSUNG 95

7. LITERATURVERZEICHNIS 97

8. ANHANG 109

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547201_0047

Für Andrea und Annika.

1. EINLEITUNG

1.1 Problemstellung

Angeregt wurde diese Arbeit dadurch, daß in jedem Lehrbuch der Pädiatrie (z.B. 26, 36, 45, 62, 63, 66) die empirisch gewonnene Feststellung getroffen wird, daß Blutungen bei Neugeborenen zu einer Hyperbilirubinämie führen können, jedoch quantitative Untersuchungen zu dieser Fragestellung praktisch nicht existieren.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, diese Zusammenhänge im Tierexperiment an jungen Gunn-Ratten näher zu durchleuchten. Zu diesem Zweck werden durch Applikation von Erythrozyten-Sediment Hämatome in verschiedenen Geweben simuliert, und zwar im subkutanen Bindegewebe, im Muskel und in der Bauchhöhle.

Folgenden Fragen soll nachgegangen werden:

1. Welche Beziehung besteht zwischen der Hämatomgröße bzw. der im Versuch zugeführten Erythrozytenmenge und der Serum-Bilirubin-Konzentration (im folgenden kurz: SBC)?
2. Ist die Konzentrations-Zeit-Funktion abhängig vom Applikationsort?
3. Wird das gesamte in den Erythrozyten enthaltene Hämoglobin in Bilirubin umgewandelt?
4. Lassen sich die experimentell gewonnenen Daten durch ein allgemeingültiges pharmakokinetisches Modell beschreiben?

Es wird von folgenden Voraussetzungen ausgegangen:

1. Das Abbauprodukt sowohl humanen wie murinen Hämoglobins sei Bilirubin; der enzymatische Abbau erfolge bei beiden Spezies in derselben Weise.
2. Die Gunn-Ratten befinden sich bezüglich ihrer SBC im steady state, d.h. es bestehe ein Gleichgewicht zwischen der spontanen Bilirubinbildung und der Bilirubinelimination.

1.2 Abgrenzung des physiologischen Icterus neonatorum simplex von der pathologischen Hyperbilirubinämie

Der Icterus neonatorum simplex tritt bei einem großen Teil der Neugeborenen zwischen dem 2. und 4. Tag auf, bei Frühgeborenen etwa einen Tag später (16). Er ist Folge einer Erhöhung des unkonjugierten Bilirubins im Serum, die praktisch auch bei allen nichtikterischen Neugeborenen - in allerdings geringerem Maße - festzustellen ist. Zu diesem als physiologisch anzusehenden Bilirubinanstieg können eine Reihe pathologischer Mechanismen kommen, wobei aber eine Abgrenzung zur behandlungsbedürftigen Hyperbilirubinämie nicht immer leicht ist.
Als obere Normgrenze gibt SCHELLONG folgende Werte an: Nabelvenenblut - 2.4 $mg.dl^{-1}$, 24-Stunden-Wert - 7 $mg.dl^{-1}$, Maximalwert - 14 $mg.dl^{-1}$; Abklingen spätestens Ende der ersten bis Mitte der zweiten Woche (71).
BROWN nennt als oberen Grenzwert eine SBC von 12 $mg.dl^{-1}$ bei Reifgeborenen und 15 $mg.dl^{-1}$ bei Frühgeborenen. Das Maximum liege bei reifgeborenen Kindern am 2. und 3. Lebenstag, bei frühgeborenen zwischen dem 6. und 8. Lebenstag. Bei allen Kindern dürfe die Rate der täglichen Bilirubinakkumulation 5 $mg.dl^{-1}$ nicht übersteigen. Höhere Werte ließen auf eine exzessive Bilirubinproduktion schließen, wie zum Beispiel bei einer Hämolyse oder Hämatomen und inneren Blutungen (16).
Verantwortlich für den physiologischen, transitorischen Neugeborenenikterus sind ein vermehrtes Bilirubinangebot an die Leberzellen, das insuffiziente Transportsystem für das Bilirubin in die Leberzellen, die unreifen Enzymsysteme für die Glukuronidierung, die langsame Entwicklung der Transportsysteme für die Diglukuronide aus der Leber; ferner haben Faktoren wie Reife bzw. Geburtsgewicht, Geschlecht, Fütterungsregime und initialer Gewichtsverlust sowie Belastungen durch die Geburt einen Einfluß auf die Höhe der SBC (6, 14, 55, 71).
Daneben treten Hyperbilirubinämien auf, für die pathologische Mechanismen (mit-)verantwortlich sind:

1. hämolytische Formen mit vermehrter Bilirubinproduktion,
2. hepatische Formen mit Störung der Glukuronidierung und Störung der Gallenfarbstoffsekretion,

3. extrahepatische Formen (Einteilung nach (6)).

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Hyperbilirubinämie infolge Gewebeblutungen, die unter die hämolytischen (oder prähepatischen), nicht immunologisch bedingten Formen fällt.

1.3. Die Hyperbilirubinämie infolge Resorption von Hämatomen

Jede Hyperbilirubinämie, gleich welcher Genese, birgt die Gefahr einer Bilirubinenzephalopathie bis hin zum Kernikterus in sich. Daher müssen alle Neugeborenen, bei denen Krankheiten zu erkennen sind, die eine SBC-Erhöhung verursachen können, sorgfältig beobachtet und gegebenenfalls einer entsprechenden Therapie zugeführt werden.
Eine unter vielen anderen Ursachen für einen Anstieg der SBC ist die sogenannte Resorptionshyperbilirubinämie bei Blutextravasaten (48, 58). Die aus der Gefäßbahn ausgetretenen Erythrozyten gehen im Gewebe rasch zugrunde und bilden neben der normalen Erythrozytenmauserung eine zusätzliche Bilirubinquelle (24, 93).

Unterschiedlich lokalisierte Blutungen verschiedener Pathogenese kommen in 3.2 % aller Geburten vor (davon sind ca. 0.7 bis 0.8 % durch Gerinnungsstörungen verursacht). Den größten Anteil an den Blutungen des Neugeborenen haben mit knapp 30 % die überwiegend geburtstraumatisch bedingten Kephalhämatome (zit. in 48). Wegen ihrer klinischen Bedeutung soll zunächst näher auf die verschiedenen Formen der Kephalhämatome und ihren Einfluß auf den Bilirubinspiegel eingegangen werden.

In den Lehrbüchern der Pädiatrie wird nicht immer zwischen subperiostal und subaponeurotisch gelegenen Blutungen unterschieden. Allerdings ist meistens, wenn nur von d e m Kephalhämatom gesprochen wird, das Keph. subperiostale gemeint, während auf das seltenere Keph. subaponeuroticum häufig nicht näher eingegangen wird.

Beim Keph. subperiostale (s. Abb. 1) kommt es durch die Abscherwirkung beim Durchtreten des kindlichen Kopfes durch den engen

Abb. 1 Die anatomische Lage des Kephalhaematoma subperiostale

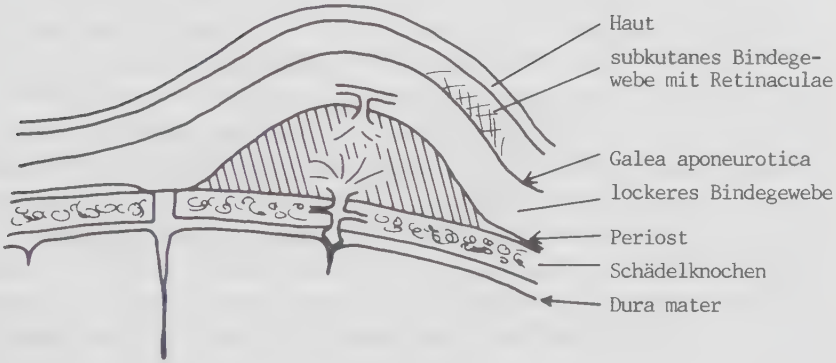
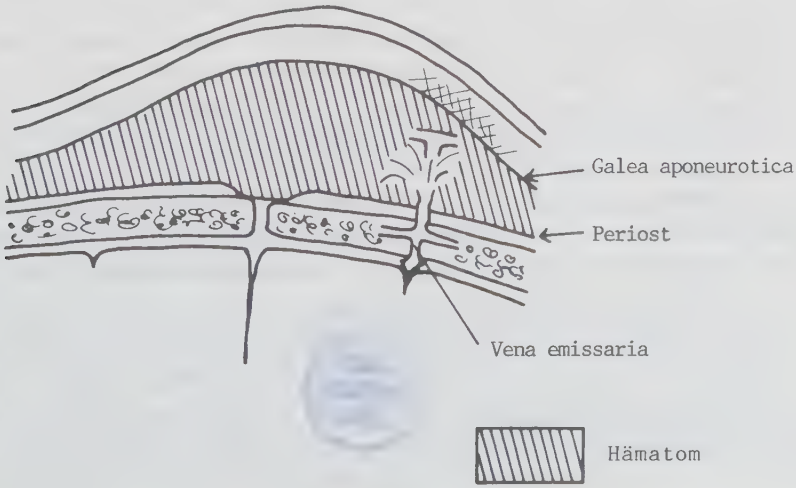


Abb. 2 Die anatomische Lage des Kephalhaematoma subaponeuroticum



Geburtskanal zur Zerreißung der Vv. emissariae (56). Diese Kephalhämatome sind wegen der festen Anheftung des Pericraniums an die Schädelnähte in ihrer Ausdehnung auf die platten Kalottenknochen begrenzt, so daß sich die Blutung selber limitiert. Selten können sie auch multipel vorkommen, gelegentlich finden sich Schädelfrakturen unter der Blutung (44). Subperiostale Hämatome werden gewöhnlich nuß- bis faustgroß, bis zu 65 ml Blut konnten abpunktiert werden (45). Sie sind im allgemeinen erst nach 3 bis 6 Tagen voll ausgeprägt (die zugrundeliegende Gefäßverletzung ist nach 8 bis 10 Tagen abgeheilt) und benötigen bis zur vollständigen Resorption einige Wochen bis Monate (24, 45, 66, 72). Obwohl einige Autoren auf die Möglichkeit eines verstärkten Neugeborenenikterus gerade auch infolge der subperiostalen Blutung hinweisen (48, 66), ist es wegen der langsamen Resorption eher unwahrscheinlich, daß diese Form der Blutung zu einer Resorptionshyperbilirubinämie führt (72). Unter der Voraussetzung, daß keine anderen pathogenetisch wirksamen Mechanismen für eine Hyperbilirubinämie vorliegen, ließ sich eine Erhöhung der SBC infolge subperiostaler Hämatome im Vergleich zu einer Kontrollgruppe statistisch nicht nachweisen (39).
Die Angaben zur Häufigkeit subperiostaler Blutungen schwanken in der Literatur zwischen 0.32 % (90), 1.2 - 1.7 % (47) und 2.49 % (44). Die Zahlen sind abhängig von der jeweils bevorzugten Geburtsmethode. So wurden von den Kindern, bei denen eine subperiostale Blutung auftrat, 65 % (90) bis 93 % (44) mit Hilfe der Zange entwickelt. 70 bis 73 % der Mütter waren Primiparae; Knaben überwogen mit 61 % (44, 90).

Von dem Keph. subperiostale streng zu unterscheiden ist das Kephalhaematoma subaponeuroticum, da sich aufgrund der anatomischen Verhältnisse eine Blutung im lockeren Bindegewebe des S u p r a periostalraumes ungehindert ausbreiten kann. Nur wo eine feste Verbindung der Galea aponeurotica mit dem Periost besteht, wird der weiteren Ausbreitung eine Grenze gesetzt. Das ist der Fall an den Ursprüngen der Mm. epicranii, als deren Zentralsehne die Galea erscheint (vorn an der Margo supraorbitalis, hinten an der Linea nuchae und seitlich an der Linea

temporalis). (s. Abb. 2) Die großen Gefäße liegen in der Subkutanschicht, und die die Arterien begleitenden Venen stehen durch die Vv. emissariae mit den Diploevenen und den Sinus durae matris in Verbindung (80, 83, 85). Es kann daher zu massiven Blutungen kommen.

Das subaponeurotische Hämatom tritt ausgesprochen selten auf (13, 45). Es entwickelt sich innerhalb von 12 bis 72 Stunden nach der Geburt (38) und wird schnell, d.h. innerhalb weniger Tage resorbiert (24, 72). Auch hier besteht eine deutliche Knabenwendigkeit (43). In der Literatur werden Blutungen von mehreren 100 ml angegeben (bei einem Gesamtblutvolumen von 85 ml/kg Körpergewicht bei Neugeborenen!) und dadurch bedingte Anämien bis unter 5 g % Hb (45, 49). In einzelnen Kasuistiken wurde das Volumen von subaponeurotischen Hämatomen auf 60 bis 70 ml (24) bzw. in zwei Fällen, die mit dem Exitus letalis endeten, auf 100 bis 150 ml geschätzt (1). Ebenfalls 150 ml wurden bei einem überlebenden Kind aufgrund von Messungen an Röntgenaufnahmen berechnet, was über 40 % der zirkulierenden Blutmenge entsprach (27).
Wie bei den subperiostalen Blutungen wird bei den subaponeurotisch gelegenen häufig ein ursächlicher Zusammenhang mit der Geburtsmethode gesehen, vor allem mit der Entwicklung mittels Vakuumextraktor (43), aber auch mittels Forceps (24, 27). Als ein weiterer bedeutsamer Pathomechanismus werden Koagulopathien diskutiert (38, 43).
Da das subaponeurotische Kephalhämatom in Europa eine Rarität darstellt, finden sich keine größeren Statistiken in der Literatur. Bei afrikanischen Kindern wird es häufiger gesehen (38, 43). Auch bei dem immer wieder zitierten Fall von LEONARD AND ANTHONY handelte es sich um das Kind einer schwarzen Mutter (49).

Folgende Zusammenhänge zwischen der SBC und den subaponeurotischen Blutungen wurden im einzelnen beschrieben (s. Tab. 1):
Bei dem Fall von LEONARD AND ANTHONY entwickelte das Kind 48 Stunden nach der Geburt einen Ikterus, und die SBC erreichte am 4. Tag einen Wert von 22 $mg.dl^{-1}$, der eine Austauschtransfusion (im folgenden kurz: AT) erforderlich machte (49).

DORTMANN UND KÜSTER berichten über drei Frühgeborene mit Kopfschwartenhämatomen, die zu Bilirubinkonzentrationen von 21.6 $mg.dl^{-1}$, 22.8 $mg.dl^{-1}$ bzw. 23 $mg.dl^{-1}$ führten. Alle Kinder benötigten mehrere Austauschtransfusionen, trotzdem verstarb eines (Kernikterus bei der Obduktion). Ein weiteres Frühgeborenes mit nicht näher beschriebenen Hämatom am Hinterkopf zeigte am 5. Lebenstag eine Serum-Bilirubin-Konzentration von 22.8 $mg.dl^{-1}$ und erhielt ebenfalls zwei Austauschtransfusionen (24).
Unter neun beobachteten Kindern fand KAGWA-NYANZI nur in zwei Fällen eine Hyperbilirubinämie mit Werten über 18 $mg.dl^{-1}$ am 4. bzw. 6. Tag (43).
Ebenfalls am 6. Tag war bei dem Kind von FONTAINE die SBC auf 18.7 $mg.dl^{-1}$ angestiegen (27).
Bei den von VAN DER HORST mitgeteilten zehn Fällen stieg die SBC niemals über die Grenze, die eine AT erforderte (38).
MARCHI berichtet über ein Neugeborenes, das am 3. Tag eine Hyperbilirubinämie von 14.5 $mg.dl^{-1}$ aufwies (54).

Im Gegensatz zu den Kephalhämatomen handelt es sich bei dem Caput succedanum um eine ödematöse, machmal auch blutig tingierte Durchtränkung des subaponeurotischen Bindegewebes infolge venöser Stauung am vorangehenden Teil des kindlichen Kopfes. Die Geburtsgeschwulst ist im Augenblick der Geburt am größten und bildet sich meist innerhalb eines Tages zurück (67).
Ähnliche blutig-ödematöse Schwellungen (der sogenannte Chignon), gelegentlich mit Hautabschürfungen, finden sich bei Anwendung des Vakuumextraktors unter der Saugglocke (58). Bis zu 20 % der so geborenen Kinder können diese Kopfhautläsionen aufweisen.
Neugeborene, die mit Hilfe des Vakuumextraktors entwickelt wurden, zeigten signifikant höhere Bilirubinwerte als eine Kontrollgruppe nach Spontangeburt (2). Die Hyperbilirubinämie trat erst zwischen dem 4. und 6. Tag auf und erreichte teilweise Werte, die eine AT erforderlich machten (87).
Über das nach Gebrauch des Vakuumextraktors vorkommende subaponeurotische Kephalhämatom wurde schon weiter oben berichtet.

Auch an anderen Körperstellen lokalisierte Blutungen können zu einer Erhöhung der SBC führen.
Bei 28 % der Kinder mit einem Bilirubinspiegel über 15 $mg.dl^{-1}$ (ohne Blutgruppeninkompatibilität) konnten zu resorbierende Blutungen festgestellt werden: neben den schon besprochenen Kephalhämatomen vor allem Hautblutungen, intrakranielle Blutungen sowie Verletzungen der Kopfschwarte bei Vakuumextraktion (77). Ferner wurden Nebennierenrindenblutungen und ein retroperitoneales Hämatom beschrieben (22, 54). Auch ein so seltenes Ereignis wie die hämorrhagische Infarzierung einer Niere durch eine Nierenvenenthrombose bei einem reifen Kind einer diabetischen Mutter führte zu exzessiven Bilirubinerhöhungen, die therapeutisch durch ATs nur schwer angegangen werden konnten, solange die Quelle des Bilirubins nicht entfernt war (in diesem Falle durch die erfolgreiche Nephrektomie) (86).

Unter Hautblutungen können erhebliche Muskelhämatome liegen (63). In der oft zitierten Arbeit von RAUSEN AND DIAMOND werden drei Kinder beschrieben, die vor allem ausgedehnte Ekchymosen (zweimal nach Zangenentbindung) aufwiesen. Eines dieser Kinder hatte zusätzlich doppelseitige (subperiostale) Kephalhämatome. Bei diesem Kind stieg die SBC am 4. Tag auf 20 $mg.dl^{-1}$, erforderte eine AT und fiel dann kontinuierlich nach dem 8. Tag. Das zweite Kind hatte ebenfalls am 4. Tag eine SBC von 21.4 $mg.dl^{-1}$ und wurde ausgetauscht (s. auch Abb. 4); beim dritten Kind, das vermutlich zusätzlich ein Hämoperitoneum hatte, wurde schon am ersten Tag eine AT durchgeführt. Im Alter von drei Tagen lag die SBC bei 18.8 $mg.dl^{-1}$ und fiel danach rasch ab (68).
Eine andere Publikation beschäftigt sich mit dem Zusammenhang zwischen Hyperbilirubinämie und Hämatomen bei zweieiigen, frühgeborenen Zwillingen, beide mit gleicher Blutgruppe, beide mit postpartaler Asphyxie und Atemnotsyndrom. Während der eine Zwilling im Alter von 40 Stunden infolge unter der Geburt erlittener Quetschungen eine SBC von 16 $mg.dl^{-1}$ aufwies und insgesamt neun ATs erhielt, erreichte der andere ohne geburtstraumatische Hämatome einen Bilirubinspitzenwert von 6 $mg.dl^{-1}$ am 3. Tag (21).

Auch intestinale Hämorrhagien sollen zu einer Hyperbilirubinämie führen können. Als Erklärung werden der Untergang der Erythrozyten und die Bildung freien, unkonjugierten Bilirubins angenommen, das bekanntlich im enterohepatischen Kreislauf wieder absorbiert werden kann. Bei einer Untersuchung von 28 Neugeborenen mit Melaena erreichten diese am 6. Lebenstag eine mittlere SBC von 14.7 $mg.dl^{-1}$, während die Kontrollgruppe eine mittlere SBC von 5.8 $mg.dl^{-1}$ aufwies. Bei immerhin drei Kindern war eine AT indiziert (59).

Weitere Blutungen des Neugeborenen, die sogenannten Tardieuschen Blutungen, sind Folge einer Vollblutdiapedese bei akuter, intrauteriner Asphyxie. Die punkt- bis flächenförmigen Blutungen vor allem unter serösen Häuten und Organkapseln können zu Blutseen konfluieren. Sie finden sich bevorzugt unter dem Epikard, der Pleura visceralis, der Thymuskapsel, der Leberkapsel (mit oft ausgedehnten subkapsulären Hämatomen) sowie in den harten und weichen Hirnhäuten (46). Untersuchungen über die Resorptionszeiten existieren m.W. nicht, bei Sektionen wurden aber gerade die Leber- und Thymushämatome noch nach Wochen und teilweise Monaten nachgewiesen, ebenso die Subarachnoidalblutungen (92).
Während retroperitoneale Blutungen zu einer Hyperbilirubinämie führen können (s. oben), ist dies bei intraperitonealen Hämorrhagien nicht der Fall (93). Im Gegenteil wird die Tatsache, daß Erythrozyten aus der Bauchhöhle intakt absorbiert werden, bei der Behandlung der fetalen Erythroblastose mit intrauterinen, intraperitonealen Bluttransfusionen ausgenutzt (Literatur bei (37); s. auch Abschnitt 1.5).

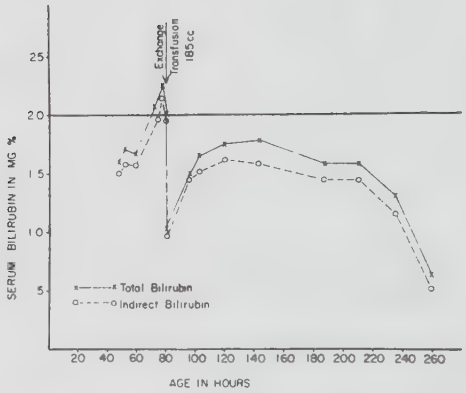
Der Literatur zum Problemkreis Blutung - Hyperbilirubinämie kann entnommen werden, daß das Bilirubinmaximum bei der Hyperbilirubinämie infolge Resorption eines Hämatoms durchschnittlich zwischen dem 4. und 6. Lebenstag liegt, also ein bis drei Tage später als beim idiopathischen Icterus neonatorum simplex, bei dem die Mittelwertkurve am 3. Tag nach der Geburt ihr Maximum hat (71). Eine Zusammenstellung findet sich in Tab. 1.
Wegen der Bedrohlichkeit des Krankheitsbildes mußte allerdings

meist vor Erreichen des Bilirubin-Peaks therapeutisch - im allgemeinen mit Austauschtransfusionen - eingegriffen werden. Daher liegen praktisch keine Verläufe unbehandelter Kinder vor, und es ist schwierig, eine Aussage zur Resorptionsdauer zu machen. Die lückenhaften Angaben aus den zitierten Publikationen sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

WEILAND UND LANGER haben SBC-Kurven von Kindern mit subaponeurotischem Hämatom publiziert, deren SBC ohne Blutaustausch (mit Albumininfusionen) unter der kritischen Grenze von 20 $mg.dl^{-1}$ gehalten werden konnte. Nach etwa 10 Tagen erfolgte bei diesen Neugeborenen der Abfall der SBC (s. Abb. 3).

Abb. 3
(in (87))

Auch der graphischen Darstellung des SBC-Verlaufes eines Frühgeborenen mit Hautekchymosen im Bereich der Oberschenkel und des Gesäßes ist zu entnehmen, daß ein deutlicher Bilirubinabfall erst nach 10 Tagen erfolgte. Die Hämatome waren dagegen schon nach einer Woche abgeblaßt. Dieses Kind erhielt am 4. Lebenstag eine Austauschtransfusion (siehe Abb. 4 aus der Arbeit von RAUSEN AND DIAMOND).



Rausen—Diamond

Abb. 4
(in (68))

Die folgende Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die in der Literatur beschriebenen Fälle von Hyperbilirubinämien infolge Resorption von Hämatomen mit Angabe der Blutungslokalisation, des maximalen Bilirubinanstieges und des Lebenstages, an dem dieser Wert erreicht wurde, ferner ob durch therapeutische Maßnahmen (vor allem durch Austauschtransfusionen) der SBC-Spiegel gesenkt wurde. Kasuistiken von Kindern, die verstarben, sind mit einem Kreuz gekennzeichnet.
In Tabelle 2 sind - soweit in den Publikationen angegeben - das Ausmaß der Blutung und die Dauer der klinischen Rückbildung aufgeführt.

Nr.	reif	un-reif	Blutungslokalisation	max. SBC ($mg.dl^{-1}$)	Lebenstag	Therapie	Autor
1		+	subaponeurotisch	23.0	4.	5 x AT	DORTMANN/ KÜSTER
2		+	subaponeurot. und Gesicht	21.6	4.	3 x AT; ✠ (Kernikt.)	
3		+	Hinterkopf	22.8	5.	2 x AT	
4		+	intrakraniell	21.0	5.	1 x AT; ✠	
5		+	subaponeurotisch	22.8	4.	3 x AT	
6	+		subaponeurotisch	22.0	4.	1 x AT	LEONARD/ ANTHONY
7	+		subaponeurotisch	18.8	4.		KAGWA/ NYANZI
8	+		subaponeurotisch	18.3	6.		
9		(+)	subaponeurotisch	22.5	4.		AHUJA
10	+		subaponeurotisch	9.0	2.		
11	+		subaponeurotisch	7.0	1.		
12	+		subaponeurotisch	?		✠	
13	+		subaponeurotisch	?		✠	
14	+		subaponeurotisch	9.8	2.	Albumin-infusion u.a.	WEILAND/ LANGER
15	+		subaponeur. und subperiostal	18.6	4.	"	
16	+		subaponeurotisch	21.2	5.	"	
17	+		subaponeur. (?) u. subperiostal (?)	18.7	6.	2 x 80 ml Bluttransf.	FONTAINE
18			subaponeurotisch (n = 10)	3.4 - 15.5		keine AT indiziert	VAN DER HORST
19			subperiostal	>10.0 (n=9 von 139)	2.-4.	Phototherapie	YASUNAGA
20		+	Weichteile und subperiostal	20.0	4.	AT	RAUSEN/ DIAMOND
21		+	Weichteile	21.4	4.	AT	
22	+		Weichteile	18.8	3.	AT am 1. Tag	
23		+ (Gemini)	Weichteile	16.0	3.	9 x AT	DAVIS
24	+		Nebennieren u. retroperitoneal	19.7	3.		FARBER

Tab. 1 (Fortsetzung folgende Seite)

Nr.	reif	un-reif	Blutungslokalisation	max. SBC ($mg.dl^{-1}$)	Lebenstag	Therapie	Autor
25		+	Nebenniere	27.2	2.	†	MARCHI
26	+		Nebenniere	30.0	?		
27	+		subaponeurotisch	14.5	3.	Bluttransfusion	
28	+		retroperitoneal	30.0	5.	AT	
29	+		hämorrhagische Nierenzyste	32.0	2.	AT	
30	+		Nebennieren	14.1	3.		DICKERMAN
31	+		hämorrhagischer Niereninfarkt	39.2	3.	2 x AT Nephrektomie	WALTERS/ HOLDER

Tab. 1 Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Fälle von Hyperbilirubinämien infolge Hämatom-Resorption (näheres siehe Text)

AT = Austauschtransfusion

Nr.	Ausmaß der Blutung	Resorptionsdauer	Autor
1	60 - 70 ml (geschätzt), darin 8 - 10 g Hämoglobin enthalten, zusätzliche tägliche Bilirubinbildung: 30 mg (berechnet)	innerhalb von 10 Tagen	DORTMANN/ KÜSTER
12	150 ml (geschätzt bei der Autopsie)		AHUJA
13	100 ml (geschätzt bei der Autopsie)		
17	150 ml (berechnet nach röntgenologischer Ausmessung); entsprach 40 % des zirkulierenden Blutvolumens		FONTAINE
21		deutliche Hämatomabblassung in der ersten Woche	RAUSEN/ DIAMOND
22		deutlicher Rückgang bis zum 10. Tag	
23	durch Austauschtransfusionen entferntes Bilirubin: 105 mg (geschätzt)		DAVIS
24	35 ml (gemessen bei der Autopsie); entsprach 15 % des geschätzten anfänglichen Blutvolumens		FARBER
25		Blutung am 17. Tag bei der Autopsie nachgewiesen	MARCHI

Tab. 2 Angaben in der Literatur zum Ausmaß von Blutungen bei Neugeborenen und zur Geschwindigkeit der Resorption (die Nummern beziehen sich auf Tab. 1)

1.4 Die Pathophysiologie des Bilirubins

Hauptquelle des Bilirubins ist der Abbau gealterter Erythrozyten. Täglich werden etwa 1 % der zirkulierenden roten Blutzellen durch das RES entfernt.
Normalerweise sind die Hauptabbauorte die Milz, die vor allem leichter geschädigte Zellen aus dem Blutstrom entfernt, die Leber, die besonders große Mengen schwer geschädigter Erythrozyten abbaut, sowie das Knochenmark, die Lungen und die Nieren (81). Nur etwa 10 bis 20 % der physiologischen Erythrozytenmauserung erfolgt intravasal.
Die Zerstörung der Erythrozyten und der Abbau des Hämoglobins sind an keine spezifische Gewebeart gebunden. In allen Geweben kann durch Makrophagen, die wie alle Zellen des RES die Häm-Oxygenase und die Biliverdin-Reduktase enthalten, die Erythrophagozytose erfolgen (8). Bekanntlich kann der Abbau der roten Blutzellen in Hämatomen auch im subkutanen und mesenchymalen Bindegewebe unter dem bekannten Farbwechsel stattfinden (8, 89). Auch extrazellulär kann sich der Hämoglobinabbau in Körpersäften wie dem Liquor cerebrospinalis oder dem Blutplasma vollziehen.

Der Abbau des Hämoglobins beginnt mit dem Austritt aus dem Erythrozyten und der proteolytischen Denaturierung des Globins. Nach oxidativer Ringöffnung des Häms, eines Eisen-Protoporphyrin-Ringsystems, durch die mikrosomale Häm-Oxygenase erfolgt die Aufspaltung in die Einzelkomponenten Eisen, das vom Organismus weiter verwendet wird, sowie den Globinrest und Biliverdin, die weiter katabolisiert werden. Durch die NADPH-abhängige Biliverdin-Reduktase, die eng an das Häm-Oygenase-System gekoppelt ist, wird Biliverdin rasch zu Bilirubin hydriert (17). Da die Kapazität der Enzymsysteme sehr viel größer ist, als für die physiologische Erythrozytenmauserung nötig, entsteht selbst bei hämolytischen Anämien eher eine Hyperbilirubinämie als eine Hämoglobinämie. Durch parenteral verabfolgtes Hämoglobin, durch Splenektomie oder hämolytische (nicht hämorrhagische) Anämien kann die Aktivität der Häm-Oxygenase in der Leber innerhalb von zwei Tagen (im Tierversuch bei der Ratte um das zwei- bis siebenfache) gesteigert werden (81).

Aus einem Gramm Hämoglobin entstehen 35 mg Bilirubin, so daß rechnerisch bei einem ca. 3.5 kg schweren Neugeborenen mit einem Blutvolumen von etwa 300 ml und einer totalen Hämoglobinmasse von 54 g täglich 0.5 g Hämoglobin in 17.5 mg Bilirubin umgewandelt werden. Dieses Bilirubin akkumuliert, wenn es nicht in der Leber durch Konjugation ausscheidungsfähig wird (16). 10 bis 20 % des anfallenden Bilirubins - bei Neugeborenen bis zu 25 % und beim Frühgeborenen noch mehr - entstammen als sogenanntes Shunt-Bilirubin der ineffektiven Erythropoiese und dem Abbau anderer Häm enthaltender Proteine (70, 84).

Das lipoidlösliche indirekte (da erst nach Zugabe von Coffein und Na-Acetat die v.Bergh'sche Diazoreaktion eingehende) Bilirubin wird, an Albumin gebunden, im Plasma zur Leber transportiert. Ein Mol Albumin bindet ein Mol unkonjugiertes Bilirubin fest.Ein Teil der Bindungskapazität kann durch Anionen wie Fett- und Gallensäuren oder Medikamente blockiert sein. Die Bindung eines weiteren Mols Bilirubin ist zwar möglich,aber weniger fest. In der Leberzelle wird das Bilirubin an die cytoplasmatischen Akzeptorproteine Y und Z gebunden (3). Die Konjugation mit aktivierter Glukuronsäure erfolgt durch die im glatten endoplasmatischen Retikulum lokalisierte Uridindiphosphat-Glukuronyltransferase. Anschließend wird das nun wasserlösliche direkte (weil direkt mit diazotierter Sulfanilsäure reagierende) Bilirubin unter Energieverbrauch in die Gallenwege sezerniert (17).
Beim Neugeborenen kommt es zum enterohepatischen Kreislauf, da wegen der noch fehlenden bakteriellen Besiedlung des Darmes das Bilirubin nicht wie beim Erwachsenen zu Urobilinogen reduziert und ausgeschieden wird, sondern durch die im Darm vorhandene ß-Glukuronidase wieder hydrolysiert und resorbiert werden kann (15, 64).

1.5 Der Abbau von Hämatomen

Der Abbau von Hämatomen ist für den Kliniker wenig interessant, was sich auch an der spärlichen Literatur im Bereich der Hämatologie und der Inneren Medizin zeigt. Dagegen hat die Untersuchung von Blutungen im Rahmen von Wundaltersbestimmungen in der Pathologie, und da insbesondere in der forensischen Pathologie, überragende Bedeutung. Auf die Ergebnisse fermenthistochemischer Untersuchungen soll hier nicht näher eingegangen werden, ausführliche Literaturverzeichnisse finden sich bei BERG (10) und JANSSEN (40).

Bekanntlich entstehen Hämatome entweder als Diapedeseblutung infolge Gerinnungsstörungen, Zirkulationsstörungen oder Gefäßwandschädigungen - oder aber als Rhexisblutung, bei der durch mechanische Einwirkung der Zusammenhang der Gefäßwand getrennt wird, so daß es zum Austritt von Blut in das umliegende Gewebe kommt.
Die korpuskulären Bestandteile finden sich zwischen den zellulären und faserigen Elementen des jeweils betroffenen Organs oder Weichteils und können sich in den Bindegewebsspalten kontinuierlich ausbreiten. Bei Blutungen in präformierte Höhlen, wie zum Beispiel die Bauchhöhle, fehlt der Zusammenhang von Gewebe und Blutkörperchen.
In der allgemeinen Pathologie wird der Abbau extravasal liegenden Blutes seinem Wesen nach als entzündlicher Vorgang aufgefaßt, wobei ausgetretenes Blut in jedem Fall einen Reiz darstellt. Die einzelnen Phasen des Blutabbaus können zwar zeitlich und quantitativ variieren, treten aber in ihrem Ablauf, unabhängig von der abzubauenden Blutart und dem abbauenden extravasalen Ort, immer auf (57).
Histologisch sieht man in den Randgebieten des Hämatoms zuerst die sogenannte Auslaugung der Erythrozyten. Parallel dazu kann schon nach 10 bis 20 Minuten ein mehr oder weniger starkes extrazelluläres Auftreten von Hämoglobin beobachtet werden, das wahrscheinlich aus lädierten Erythrozyten stammt. Dagegen erfolgt im Zentrum der Blutfarbstoff-Austritt langsamer. Durch Diffusion wird das umliegende Gewebe rasch imbibiert, ohne daß

sich die korpuskulären Blutelemente verlagern. Im Fettgewebe ist die Diffusion nur minimal, die Fettgewebszellen werden offenbar nicht imbibiert (40).
Auf eine frühe zellfreie, exsudative Phase folgt eine leukozytäre Reaktion vom Randgebiet des geschädigten Gewebes her, die stark von der Vaskularisation des betroffenen Gebietes beeinflußt wird. Die erste Leukozyteneinwanderung bei subkutanen Blutungen erfolgt beim Menschen nach etwa 4 Stunden. Im Tierversuch - insbesondere bei kleinen Laboratoriumstieren wie Ratten - verlaufen diese Reaktionen zum Teil wesentlich schneller. Hier ist eine deutliche Leukozytenansammlung am Hämatomrand schon nach 1.5 Stunden erkennbar (11). Beim Menschen findet sich bereits nach 9 Stunden eine deutliche mononukleäre Reaktion. Die Leukozyten werden nach 16 bis 24 Stunden zunehmend nekrotisch, und das Verhältnis von polymorphkernigen zu mononukleären Zellen verschiebt sich zu den letzteren. Makrophagen erscheinen nach etwa 12 Stunden und verbleiben bis zur vollständigen Abräumung der Blutung (10). Im weiteren Verlauf erfolgt entweder die vollständige Resorption des Hämatoms durch Fibrinolyse und nachfolgenden humoralen Abtransport oder - seltener - die Ausbildung eines Granulationsgewebes durch histiogene Wanderzellen und die Bildung einer Bindegewebsnarbe.
Je nach angewendeter Methode werden eisenhaltige Pigmente vereinzelt in Phagozyten schon nach 24 bis 48 Stunden nachgewiesen. In gequetschtem Tiergewebe (von großen Haus- und Nutztieren) ist Bilirubin biochemisch mit Fouché's Reagens dagegen in den ersten 50 bis 60 Stunden nicht nachweisbar, sondern erscheint erst nach 60 bis 72 Stunden, hat ein Konzentrationsmaximum nach 4 Tagen und ist mit der kompletten Abheilung verschwunden. Es wird nur intrazellulär in den Makrophagen gefunden. Die Bilirubinkonzentration ist am Rand der Quetschung höher als im Zentrum (34).

Da bei meinen Versuchen den Gunn-Ratten auch Blut in die Bauchhöhle injiziert wurde, folgt an dieser Stelle ein Exkurs über intraperitoneale Bluttransfusionen.

Seit 1892 , als v. RECKLINGHAUSEN entsprechende Versuche an Kaninchen unternahm, ist bekannt, daß Blut aus der Bauchhöhle ab-

sorbiert werden kann. HAYEM zeigte 1884, daß Kaninchenerythrozyten durch Hämolysine im Serum von Hunden zerstört wurden und freies Hämoglobin im Hundeserum erschien. Umgekehrt fand er die roten Blutzellen des Hundes im Kreislauf des Kaninchens wieder. 1898 machte SOUTHGATE darauf aufmerksam, daß die Gabe artfremden Blutes in die Bauchhöhle des Kaninchens eine Hämoglobinurie hervorrufen und den Tod des Tieres verursachen konnte. 1921 unternahm ZIMMERMANN Versuche mit dem Blut von Vögeln und zeigte, daß die kernhaltigen Vogelerythrozyten bereits nach 5 Minuten im Meerschweinchen-Kreislauf und nach 15 bis 30 Minuten im Kaninchen-Kreislauf nachweisbar waren. Die Absorption war nach 48 Stunden vollständig (Literaturübersicht bei (79)).
CLAUSEN wies 1938 darauf hin, daß beim Menschen nur gekreuztes Blut transfundiert werden dürfe, da die Erythrozyten intakt mit den Blutgruppeneigenschaften absorbiert würden (19). Bei neueren Tierversuchen an Katzen (1966) ließ sich keine sichere Beziehung zwischen Resorptionsgröße und Volumen der injizierten Erythrozytensuspension herstellen (69). Bei Ratten erschienen innerhalb von 24 Stunden nach i.p.-Gabe von Vollblut 34 % im Ductus thoracicus und 11 % im Ductus lymphaticus dexter (76). Bei Versuchen am Menschen wurde nachgewiesen, daß nur intakte, nicht aber hämolysierte Erythrozyten absorbiert wurden (65).

2. MATERIAL UND METHODE

2.1 Die Gunn-Ratte als Tiermodell

Die Untersuchungen wurden an homozygoten Gunn-Ratten durchgeführt, die d a s In-vivo-Modell sind, wenn es um Fragen der Beeinflussung einer nicht-hämolytischen, unkonjugierten Hyperbilirubinämie geht, da diese Tiere aufgrund eines genetisch fixierten Glukuronyltransferase-Mangels zeitlebens an einer Erkrankung leiden, die beim Menschen dem transitorisch bei Neugeborenen vorkommenden physiologischen Icterus neonatorum simplex, aber auch dem Crigler-Najjar-Syndrom entspricht (3, 18, 74). Die Gunn-Ratte ist das einzige Tier, bei dem spontan ein Kernikterus auftritt (91).

Die Gunn-Ratte ist eine Mutante des Wistar-Stammes, die erstmalig 1938 von GUNN beschrieben wurde (31). Der Enzymdefekt wird autosomal-rezessiv vererbt, mit 100 %iger Penetranz bei den Homozygoten. Heterozygote (Jj) Tiere weisen im Vergleich zu gesunden Wistar-Ratten zwar eine signifikant niedrigere Glukuronyl-Transferase-Aktivität auf, jedoch reicht diese aus, um das Entstehen einer Hyperbilirubinämie und eines Kernikterus zu verhindern (42). Hierzu reicht die Enzymaktivität bei den homozygoten (jj) Tieren, die aus einer Paarung heterozygoter Weibchen mit homozygoten Männchen hervorgehen (91) und makroskopisch an dem gelben Fell und den gelben Ohren von den weißen heterozygoten Tieren deutlich zu unterscheiden sind, nicht mehr aus. Dieser metabolische Defekt betrifft nicht spezifisch das Lebergewebe, sondern auch Nieren und Intestinaltrakt (18).
Die Aktivität der ß-Glukuronidase ist bei der Gunn-Ratte dagegen unvermindert (51).
Bei homozygoten Tieren ist die SBC zum Zeitpunkt der Geburt noch normal, steigt aber schon in der 2. Lebensstunde auf 2.2 $mg.dl^{-1}$ an und weist nach 12 bis 24 Stunden 5.9 $mg.dl^{-1}$ auf (41). Nach 14 bis 16 Tagen wird mit 11.5 $mg.dl^{-1}$ (Standardabweichung 4.1) das Maximum erreicht (42), danach fällt die SBC bis zum Alter von einem Monat auf einen relativ konstanten Wert von 6.33 $\pm$ 1.47 (41) bzw. 6.1 $mg.dl^{-1}$ (53). Diesen Wert behält die er-

wachsene Ratte bei (= steady state).
60 % der homozygoten Tiere entwickeln in den ersten drei Lebenswochen einen Kernikterus, der bei der Hälfte der Ratten zum Tode führt. Die überlebenden Tiere reagieren besonders empfindlich auf Infektionen, Hunger, Kälte, Hitze und Stress (42). Als klinische Symptome der Bilirubinenzephalopathie zeigen sich gewöhnlich in der 2. Lebenswoche mangelhafte Gewichtszunahme infolge verminderten Saugens, Hypotonie, ungezielte Hyperaktivität, ataktische und athetotische Bewegungsstörungen, klonische Krämpfe und Paralyse der Hinterbeine (42, 31). Bei der Sektion finden sich eine diffuse Gelbfärbung des Gehirnes und lokalisierte Pigmentierungen, besonders im Bereich der Basalganglien, Thalamuskerne, Colliculi inferiores und des Kleinhirnes (42). Histologisch lassen sich außer Veränderungen der Ganglienzellen Zelluntergänge v.a. an den Purkinjezellen des Kleinhirnes nachweisen. Histochemisch werden fehlende Enzymreaktionen in den Purkinjezellen beobachtet (35). Der Schweregrad des Kernikterus korreliert mit der SBC und kann durch weitere Einflüsse wie Azidose, Hypalbuminämie, um die Albuminbindung konkurrierende Anionen wie freie Fettsäuren, Gallensäuren und Medikamente sowie durch Infektionen und Hungerzustände, die eine Erhöhung des Bilirubinspiegels bewirken, verstärkt werden (41, 78). Außerdem finden sich bei den homozygoten Gunn-Ratten eine leichte nicht-hämolytische Anämie, pathologische Veränderungen des Gastro-Intestinaltraktes, pulmonale Hämorrhagien, interstitielle Nephritiden und teilweise Infertilität (31, 42, 53).

Da die SBC bei der Gunn-Ratte bemerkenswert konstant bleibt, das heißt sich ein steady state zwischen Bilirubin-Produktion einerseits und Bilirubin-Elimination andererseits einstellt, muß es alternative Abbauwege geben. Auch beim Menschen mit Crigler-Najjar Syndrom stellt sich ein steady state ein mit Werten zwischen 12 und 45 $mg.dl^{-1}$ (4). Die 'alternate pathways' sind noch nicht hinreichend erforscht, doch weiß man, daß eine extrahepatische Glukuronidierung nicht stattfindet (5).
Der Metabolismus und die Ausscheidung des Bilirubins wurden an Gunn-Ratten mit und ohne biliäre Fistel nach außen mittels Iso-

topen-markierten Bilirubins untersucht. Das markierte Bilirubin verschwand nach Äquilibrierung, einer Kinetik erster Ordnung folgend (75). Der Bilirubin-Verteilungsraum entspricht bei der Ratte nicht dem Albuminverteilungsraum, da das Bilirubin nicht so fest wie beim Menschen an Albumin gebunden ist. Ein signifikanter Anteil des austauschbaren Bilirubins ist im Gewebe auch an andere Proteine gebunden (61); fünf Sechstel befinden sich extravaskulär (75). Bei Gunn-Ratten ohne Gallendrainage fanden sich 69 bis 96 % der eliminierten Radioaktivität in den Faeces und nur weniger als 5 % im Urin wieder. Unbedeutende Mengen unkonjugierten Bilirubins konnten auch in der Galle gefunden werden. Daß ein signifikanter Anteil markierten unkonjugierten Bilirubins auch bei Tieren, deren gesamte Galle nach außen geleitet wurde, in den Faeces erschien, deutete auf eine direkte Ausscheidung über die Darmmukosa hin. Dafür sprach auch, daß durch die orale Gabe von Cholestyramin, das Bilirubin im Darm fest bindet, eine Senkung der SBC erreicht werden konnte (50). Ein Drittel bis ein Fünftel des gesamten Isotopenumsatzes erschien in Form wasserlöslicher Bilirubinabbauprodukte in der Galle und zu einem geringeren Prozentsatz im Urin. Die chemische Struktur dieser Metabolite war bisher nicht aufzuklären, jedoch ließen Löslichkeit und spektroskopische Eigenschaften eine Ähnlichkeit mit den Abbauprodukten nach Lichtexposition in vitro vermuten, so daß der Schluß nahe lag, daß bei Gunn-Ratten eine vergleichbare Aufspaltung in vivo erfolge. Da diese Spaltprodukte nicht im Serum gefunden wurden, war entweder eine sehr schnelle Ausscheidung oder eine Metabolisierung direkt in den ausscheidenden Organen anzunehmen. Wurden diese Spaltprodukte gesunden Ratten injiziert, so erfolgte die Ausscheidung mit der Galle sehr schnell ohne Konjugation (75).

Untersuchungen zum Photokatabolismus zeigten unter Lichtexposition eine Beschleunigung der beiden alternativen Abbaumechanismen mit einer sprunghaft angestiegenen Ausscheidung sowohl unkonjugierten Bilirubins als auch wasserlöslicher Bilirubinspaltprodukte. Diese waren chromatographisch mit den in der Kontrollphase unter Laborbedingungen gewonnenen identisch, nicht aber mit den in vitro gewonnenen Photospaltprodukten (60).

2.2 Versuchsdurchführung

Da aufgrund des Erbganges aus der Paarung heterozygoter weiblicher mit homozygoten männlichen Gunn-Ratten nur maximal 50 % homozygoten Nachwuchses hervorgeht und zudem ein Teil der homozygoten Ratten-Babies infolge des Kernikterus verstirbt, standen die Versuchstiere nur in begrenzter Anzahl zur Verfügung.
Es wurde mit insgesamt 83 homozygoten und 6 heterozygoten Tieren aus 23 Würfen gearbeitet. Die Versuchsgruppen setzten sich aus fünf, gelegentlich drei Tieren zusammen, wobei die Ratten einer Gruppe möglichst aus einem Wurf stammten. Wenn dies nicht möglich war, wurden Tiere gleichen Alters zusammengestellt. Da bei weiblichen und männlichen Gunn-Ratten die Gleichgewichtskonzentration des Bilirubins gleich ist, wurde mit beiden Geschlechtern gearbeitet.
Um den Einfluß der Laktation auf den Bilirubinspiegel auszuschalten, waren die jungen Ratten immer einige Tage vor Beginn der Messungen von der Mutter abgesetzt worden.
Sie erhielten Altromin^{R}- Standard -Diät und täglich frisches Leitungswasser ad libidum.
Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Tiere in einem abgedunkelten Raum gehalten, um den Einfluß des Lichtes auf die SBC auszuschalten. Teilweise waren die Ratten schon im Dunkelraum geworfen worden. Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit wurden soweit als möglich konstant gehalten.
Bei Versuchsbeginn waren die Tiere mindestens einen Monat alt, da sich in diesem Alter das steady state eingestellt haben sollte (42).
Nähere Daten zu den Tieren sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Vor Beginn der Versuche wurden alle Tiere an den Ohren gezeichnet und gewogen. Weitere Gewichtsmessungen erfolgten täglich vor der Blutentnahme.
Zur Blutgewinnung wurde die Schwanzspitze durch Scherenschlag kupiert und das austretende Blut in heparinisierten Glaskapillaren [1)] ohne mechanische Manipulation (um eine Hämolyse zu

---

1) Dade^{R} Capilets Microhematocrit Tubes

vermeiden) aufgefangen. Sofort nach der Blutentnahme wurde die Schwanzspitze zur Infektionsprophylaxe und Blutstillung thermisch verschorft. Pro Blutentnahme betrug der Blutverlust im allgemeinen 80 µl . Trotzdem kam es gelegentlich zu stärkeren Hämatokritabfällen, die auf Nachblutungen beruhten, wenn die Tiere sich selbst oder gegenseitig das verschorfte Schwanzende abknabberten.
Die Blutentnahme erfolgte in einem leicht abgedunkelten Raum. Da Labor-Ratten sehr stress-anfällige Tiere sind, die schon auf Maßnahmen wie das Herumtragen des Käfigs mit einer deutlichen Veränderung der Laborparameter (z.B. Erhöhung der endokrinen Parameter, Veränderung der Werte von Hämatokrit, Hämoglobin, Herzfrequenz und Serumprotein als Zeichen zirkulatorischer und mikrozirkulatorischer Schockreaktion) reagieren, sollten Blutproben innerhalb von 100 Sekunden nach Berühren des Käfigs gewonnen werden (28) - eine Forderung, die bei meinen Versuchen allerdings nicht immer eingehalten werden konnte. Wiederholte Konfrontation mit dem Stressor kann die Antwort sowohl verstärken als auch abschwächen (23).

Zur Vermeidung einer Photooxidation wurden die Kapillaren, vor Licht geschützt, in einem Karton bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt.
Anschließend wurde das Blut mit 2500 Umdrehungen pro Minute fünf Minuten lang zentrifugiert[1)] und der Hämatokrit an einer Skala abgelesen.
Danach wurde die SBC direkt photometrisch im Bilirubinometer[2)] gegen einen Glasfilterstandard von 14.25 in Spezialküvetten gemessen und in $mg.dl^{-1}$ abgelesen[3)]. Das Bilirubinometer mißt die Lichttransmission bei einer Wellenlänge von 461 nm sowie (zur Hämoglobinkompensation) bei 551 nm (52). Sichtbar hämolytische Seren wurden verworfen, da bei stärkerer Hämolyse zu niedrige Werte ermittelt wurden. Durch Vergleichsmessungen mit der Diazo-

---

1) Microfuge Heraeus Christ
2) American Optical Corporation
3) Zur Umrechnung in µmol/l muß der Wert mit 17.1 multipliziert werden.

methode konnte in früheren Versuchen die Zuverlässigkeit der Methode bestätigt werden.
Die Zeiten der SBC-Messungen nach der Blutapplikation sind Tabelle 6 zu entnehmen.

Um unterschiedliche Hämatome zu simulieren, wurden Erythrozytendepots in verschiedene Gewebe gesetzt. Als Applikationsorte wurden das lockere Bindegewebe unter der Rückenhaut, die Muskulatur des Femur und die Bauchhöhle gewählt. Ferner wurde einer Versuchsgruppe Blut per os sondiert.
Der Versuchsplan mit näheren Angaben zur Dosierung und zum Applikationsort ist in Tabelle 4 aufgestellt.
Für die Versuche wurden Blutkonserven des Berliner Blutspendedienstes des Deutschen Roten Kreuzes verwendet: Blutgruppe 0 Rh-positiv bei den Versuchsreihen 1 bis 9, Blutgruppe 0 rh-negativ bei den Versuchsreihen 10 und 11.
Die Verträglichkeit menschlichen Blutes war bereits in Vorversuchen an vier Gruppen von je drei homozygoten Gunn-Ratten verschiedenen Alters getestet worden. Dazu war Blut der Gruppen 0 Rh-positiv, A Rh-positiv und B Rh-positiv in unterschiedlicher Dosierung subkutan injiziert worden. Ferner war einer Gruppe von drei Tieren Rattenvollblut einer unmittelbar zuvor getöteten und entbluteten Ratte subkutan gespritzt worden.
An keinem der 15 Tiere waren Hinweise auf eine Unverträglichkeitsreaktion zu erkennen. Die Tiere zeigten keine Veränderung im Verhalten, fraßen wie gewohnt weiter und nahmen dem Alter entsprechend zu. Im Serum war makroskopisch keine Hämolyse zu erkennen. Hämatokritschwankungen waren durch die Blutentnahmen zu erklären. Da allen Tieren nur je einmal humanes Blut gespritzt wurde, spielten möglicherweise auftretende Sensibilisierungen keine Rolle.
Aufgrund dieser Vorversuche wurde weiterhin ermittelt, daß sich Anstieg und Abfall der SBC über einen Zeitraum von ungefähr sieben Tagen erstreckten, und es wurden entsprechende Pläne für die Hauptversuche aufgestellt.
Vor der Applikation wurde die Blutkonserve für ungefähr 24 Stunden im Kühlschrank aufgehängt. Unmittelbar vor der Injektion

wurden die abgesetzten Erythrozyten mittels Spritze entnommen. Von dem Sediment wurden jeweils drei Proben zur Bestimmung des Hämoglobingehalts und des Hämatokrits ins hämatologische Kliniklabor geschickt.
Die für jedes Tier berechnete Blutmenge wurde mit einer Tuberkulinspritze abgemessen und mit einer 17er Kanüle injiziert.

Die Berechnung der injizierten Blutmenge basiert auf der Überlegung, daß die Hämatome einer Blutung von 5 %, 10 % und 20 % des zirkulierenden Blutvolumens entsprechen sollten. Auf Neugeborene übertragen, bedeuten diese Hämatomgrößen bei einem 3.5 kg schweren Kind mit einem Blutvolumen von 85 ml/kg Körpergewicht Blutungen von 15, 30 und 60 ml (vergleiche auch die Angaben zum Ausmaß subperiostaler Blutungen auf Seite 8 und die zum Ausmaß subaponeurotischer Blutungen auf Seite 9).
Für die einen Monat alte Gunn-Ratte wurde ein mittleres Blutvolumen von 8 ml/100 g Körpergewicht angenommen (siehe auch Seite 54). Um eine unnötige Volumenbelastung zu vermeiden, wurde Erythrozyten-Sediment gespritzt, und zwar unter Zugrundelegung eines Hämatokrits von 40 % folgende Mengen:

bei einer 5 %igen Blutung: 0.16 ml Erythrozyten-Sediment/ 100 g KG
" " 10 %igen " : 0.32 ml " "
" " 20 %igen " : 0.64 ml " "

Um festzustellen, ob es überhaupt möglich sei, einer jungen Ratte ein intramuskuläres Blutdepot zu setzen, wurde an einer toten, 123 g schweren weiblichen Ratte die Muskulatur des Hinterlaufes freipräpariert und gewogen.
Die für die i.m.-Injektion geeignete Muskulatur des Femur bestand aus drei größeren Muskeln mit einem Gesamtgewicht von 2.84 g. In jeden dieser drei Muskeln ließ sich leicht ein Farbstoffdepot von 0.4 bis 0.5 ml injizieren.
Da natürlich nicht auszuschließen war, daß am lebenden Tier beim i.m.-Spritzen großer Blutmengen ein Teil des Blutes auch in Gewebe außerhalb des Muskels gerät, wurde auf die Gabe von 0.64 ml/100 g Körpergewicht bei dieser Applikationsform verzichtet.

Ein dem subperiostalen Hämatom des Säuglings entsprechendes

Hämatom konnte bei der Gunn-Ratte leider nicht untersucht werden, da es nicht gelang, intravital ohne größeres Trauma mit einer feinen Kanüle unter das Periost des Schädelknochens oder eines anderen Knochens ein Erythrozytendepot zu setzen. Das Periost der Ratte ist äußerst dünn, fest am Knochen haftend und zerreißlich. Zudem entwich bei Versuchen am toten Tier das installierte Blut wieder durch den Stichkanal. Auf einen neurochirurgischen Eingriff wurde verzichtet.

Allen Versuchen gingen mehr-, meist 6- bis 7-tägige Leerwertmessungen im Abstand von 24 Stunden voraus, um festzustellen, welche individuelle Schwankungsbreite die Tiere aufwiesen, ob sie sich im steady state befänden und ob ein Zusammenhang zwischen Nahrungsaufnahme und SBC bestehe. Dazu wurde zusätzlich die SBC bei der Versuchsreihe 12 mit fünf Tieren zu verschiedenen Tageszeiten sowie nach einer ca. 8-stündigen Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz bestimmt.

Als Kontrolltiere dienten homozygote Gunn-Ratten, die den Versuchstieren hinsichtlich Alter und Gewicht entsprachen, unter denselben äußeren Bedingungen (Dunkelhaltung!) gehalten wurden und an denen dieselben experimentellen Prozeduren vorgenommen wurden. Anstelle von Erythrozyten-Sediment wurde diesen Tieren dasselbe Volumen 0.9 %ige NaCl-Lösung subkutan, intramuskulär und intraperitoneal gespritzt. So ergaben sich acht Kontrollgruppen, die sich allerdings wegen des knappen Tiermaterials nur aus jeweils drei Ratten zusammensetzten.
Die Daten zu Alter und Gewicht sind Tabelle 3, zu Dosierung und Applikationsort Tabelle 5 zu entnehmen.

Stichprobenweise wurden Blutbilder bei je drei 52 Tage alten homozygoten Ratten während des Versuches (nachdem bereits 10 Blutentnahmen erfolgt waren), bei drei 52 Tage alten homozygoten Tieren, denen zuvor noch kein Blut abgenommen worden war, sowie bei drei 50 Tage alten heterozygoten Tieren untersucht. Bei drei weiteren heterozygoten Tieren wurde das Blutbild im Alter von 27, 32 und 42 Tagen kontrolliert. Es wurden die üblichen, auf Menschenblut adaptierten Methoden (Coulter Counter) angewendet. Zugleich wurden die Retikulozytenzahlen dieser 12

Tiere sowie 27 weiterer homozygoter Ratten aus dem Versuch ein- bis mehrmals nach Färbung mit Brillantkresylblau auf dem Objektträger lichtmikroskopisch [1] auf je 1000 Erythrozyten ausgezählt.

---

1) Zeiss

Versuch Nr.	Anzahl der Tiere (lfd. Nr.)	Alter am Tag d. Injektion (in Tagen)	Geschlecht weibl.	männl.	mittleres Gewicht (g)
1	5 (1- 5)	32-33	5		62 (56- 74)
2	5 (6-10)	41	2	3	116 (105-128)
3	5 (11-15)	41-42	2	3	99 (76-117)
4	5 (16-20)	32-33		5	79 (67- 90)
5	5 (21-25)	46-48	4	1	124 (108-143)
6	5 (26-30)	32-33		5	70 (58- 86)
7	3 (31-33)	43	2	1	102 (89-108)
8	5 (34-38)	32-33	5		62 (50- 74)
9	3 (39-41)	43	2	1	88 (79-100)
10	5 (42-46)	41-42	2	3	98 (73-124)
11	5 (47-51)	40-42	4	1	92 (72-107)
12	5 (52-56)	50-54	5		110 (81-133)
13	3 (57-59)	31	3		59 (53- 66)
14	3 (60-62)	34-37	3		60 (55- 67)
15	3 (63-65)	33	3		55 (51- 62)
16	3 (66-68)	34		3	67 (63- 72)
17	3 (69-71)	37		3	74 (68- 80)
18	3 (72-74)	37	3		72 (64- 82)
19	3 (75-77)	32		3	79 (76- 82)
20	3 (78-80)	34		3	84 (82- 87)

Tab. 3 Daten der Versuchs- und Kontrolltiere

Versuch Nr.	Applikationsort	Volumen des Erythrozyten-Sedimentes (ml/100 g Körpergew.)
1	subkutan	0.16
2	subkutan	0.32
3	subkutan	0.64
4	intramuskulär	0.16
5	intramuskulär	0.32
6 + 7	intraperitoneal	0.16
8 + 9	intraperitoneal	0.32
10	intraperitoneal	0.64
11	oral	0.64

Tab. 4

Versuch Nr.	Applikationsort	Volumen der 0.9 %igen NaCl (ml/100 g KG)
13	subkutan	0.16
14	subkutan	0.32
15	subkutan	0.64
16	intramuskulär	0.16
17	intramuskulär	0.32
18	intraperitoneal	0.16
19	intraperitoneal	0.32
20	intraperitoneal	0.64

Tab. 5

Versuch Nr.	Zeiten der SBC-Bestimmungen nach der Injektion (in h)
2	0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192
1, 4, 6, 8	0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 189, 240, 283, 337
3, 7, 9, 10	0, 2, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 78, 100, 126, 150, 169, 193, 245
5	0, 12, 24, 36, 48, 60, 78, 102, 122, 150, 173, 197, 222
11	0, 4.5, 10, 24, 48
13 - 20	0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120

Tab. 6

3. ERGEBNISSE DER VERSUCHE

3.1 Ergebnisse der Versuche 1 bis 10

Im folgenden werden die Versuchsreihen im einzelnen betrachtet. Eine Zusammenfassung findet sich am Ende des Abschnittes.

Versuch 1 (Tiere 1 bis 5)

Applikationsweise:	subkutan
Dosis:	0.16 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.0448 g Hämoglobin/100 g Körpergewicht
Alter:	32 bis 33 Tage

An den sieben Meßtagen vor dem Versuch zeigte die Gruppe ein nur gering schwankendes steady state zwischen 5 und 7 $mg \cdot dl^{-1}$. Nur das Tier Nr. 1 lag mit Werten um 8 $mg \cdot dl^{-1}$ deutlich darüber. Nach der Blutinjektion stieg die SBC innerhalb der ersten 24 Stunden an und erreichte ihr Maximum zwischen dem 2. und 3. Tag. Tier Nr. 2 zeigte keinen deutlichen SBC-Anstieg. Bereits nach 5 Tagen hatte die Gruppe das alte steady state erreicht. Es erfolgte noch ein weiterer Abfall, bis sich nach 8 Tagen eine neue Gleichgewichtskonzentration zwischen 4 und 6 $mg \cdot dl^{-1}$ einstellte (s. Tabelle 7 und Abbildung 5).

Versuch 2 (Tiere 6 bis 10)

Applikationsweise:	subkutan
Dosis:	0.32 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.0832 g Hämoglobin/100 g Körpergewicht
Alter:	41 Tage

Aus unbekannten Gründen wiesen die Tiere dieser Gruppe ein sehr viel niedrigeres steady state als alle anderen Tiere auf. Es war sehr stabil und lag zwischen 2.5 und 4.5 $mg \cdot dl^{-1}$. Bei den Ratten handelte es sich eindeutig um homozygote Tiere, die der üblichen Paarung von heterozygoten Weibchen mit homozygoten Männchen entstammten. Der Anstieg der SBC in den ersten 24 Stunden war deutlich steiler als bei der vorhergehenden

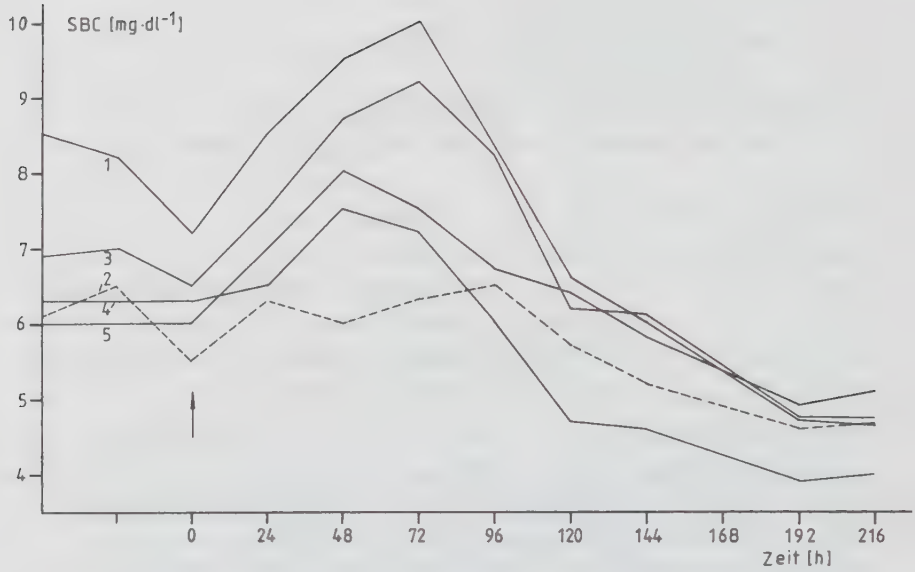


Abb. 5 Änderung der SBC nach Applikation von 0.16 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht subkutan
(↑ Zeitpunkt der Leerwertmessung und anschließenden Injektion; ---- nicht auswertbare Kurvenverläufe)

Gruppe. Das Maximum wurde ebenfalls zwischen dem 2. und 3. Tag erreicht. Anschließend erfolgte ein steiler Abfall, bis sich das ursprüngliche steady state zwischen dem 6. und 7. Tag wieder eingestellt hatte (s. auch Tabelle 7 und Abbildung 6).

Versuch 3 (Tiere 11 bis 15)

Applikationsweise:	subkutan
Dosis:	0.64 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.1376 g Hämoglobin/1oo g Körpergewicht
Alter:	41 bis 42 Tage

In den ersten drei Versuchen sollten sich die gespritzten Hämoglobindosen wie 1 : 2 : 4 verhalten (s. auch Seite 29). Da die Versuche jedoch an verschiedenen Tagen durchgeführt

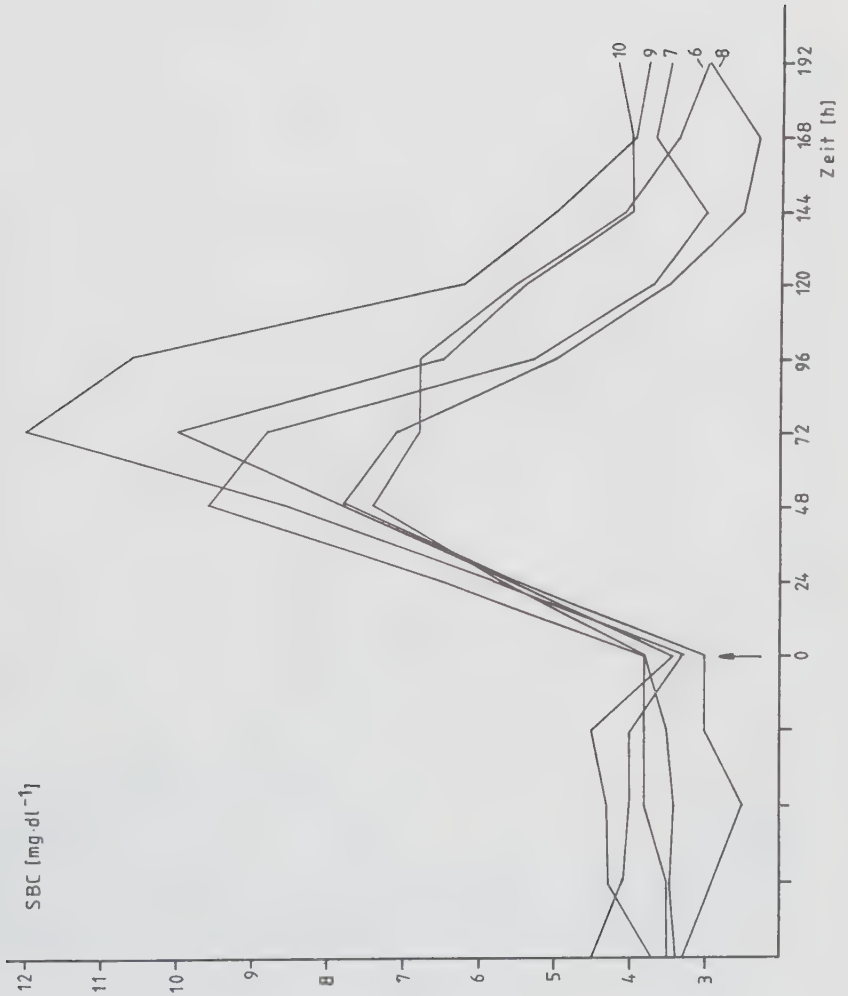


Abb. 6 Änderung der SBC nach Applikation von 0.32 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht subkutan

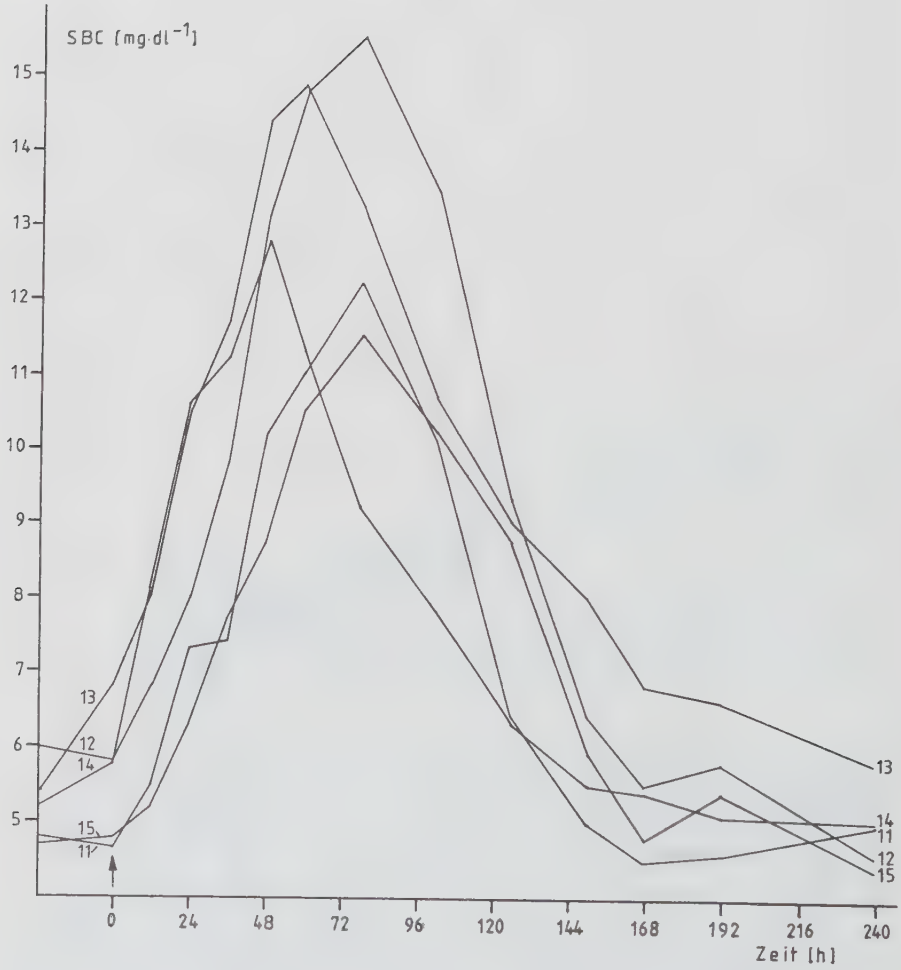


Abb. 7 Änderung der SBC nach Applikation von 0.64 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht subkutan

wurden und unterschiedliche Blutkonserven mit unterschiedlichem Hämoglobin-Gehalt benutzt wurden, verhielten sich die tatsächapplizierten Hb-Mengen wie 1 : 1.85 : 3.07 (s. auch die Zusammenstellung in Tabelle 8).

Bei den Tieren dieser Versuchsreihe erfolgten die Blutentnahmen in kürzeren Zeitintervallen (s. auch Tab 6). Zwei Stunden nach der Blutgabe war noch kein Anstieg der SBC erkennbar. Er war aber nach 12 Stunden deutlich und setzte sich bis zum Maximum zwischen dem 2. und Beginn des 4. Tages fort. Vier Tiere hatten am 7. Tag, eines (Nr. 14) schon am 6. Tag die Ausgangswerte wieder erreicht. Nur bei dieser Gruppe war der SBC-Anstieg nicht so hoch wie erwartet. Eine Fehlermöglichkeit liegt in der Abmessung der Blutmenge, eine weitere in der Unsicherheit, ob das Blut, das injiziert wurde, tatsächlich den im Labor bestimmten Hämoglobin-Gehalt aufwies (wegen ungenügenden Durchmischens des Erythrozyten-Sedimentes).
S. auch Tabelle 7 und Abbildung 7.

Versuch 4 (Tiere 16 bis 20)

Applikationsweise:	intramuskulär
Dosis:	0.16 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.0448 g Hämoglobin/100 g Körpergewicht
Alter:	32 bis 33 Tage

Das steady state dieser Tiere lag vor dem Versuch mit geringen Schwankungen zwischen 5.5 und 7 mg dl^{-1}. Auch hier erfolgte innerhalb der ersten 24 Stunden ein Anstieg der SBC mit einem Maximum nach 48 Stunden, also etwas früher als bei den Versuchen mit subkutaner Applikationsweise. Zwei Tiere erreichten den Ausgangswert am 5. Tag, drei Tiere lagen mit ihrer SBC am 6. Tag knapp über dem Leerwert und unterschritten ihn am 8. Tag. Das neue steady state stellte sich mit Konzentrationen zwischen 4.5 und 6 mg dl^{-1} im Durchschnitt um 1 mg dl^{-1} tiefer als vor dem Versuch ein (s. Tabelle 7 und Abbildung 8).

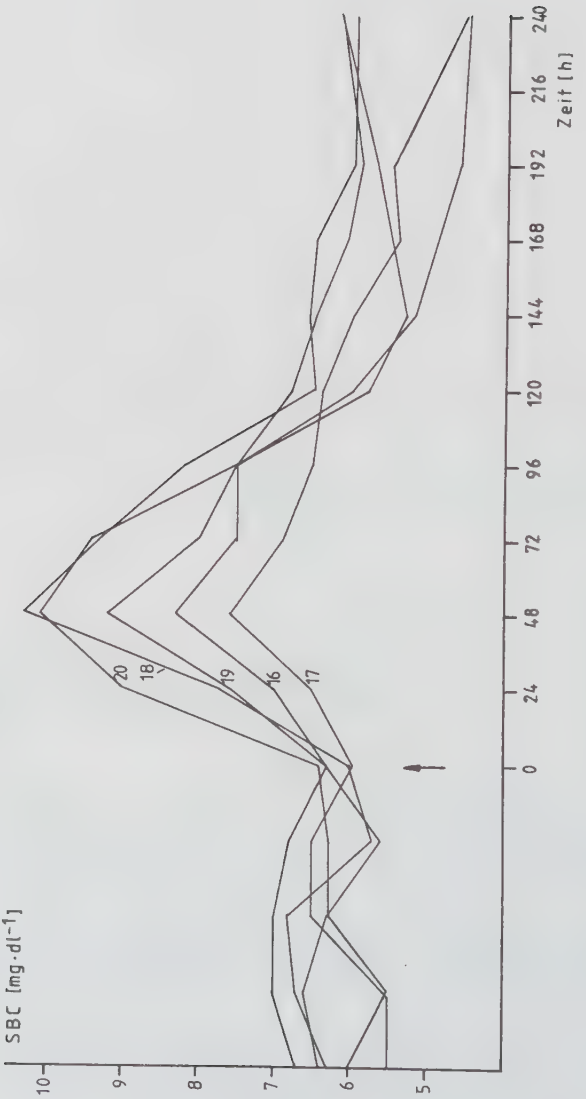


Abb. 8 Änderung der SBC nach Applikation von 0.16 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht intramuskulär

Versuch 5 (Tiere 21 bis 25)

Applikationsweise:	intramuskulär
Dosis:	0.32 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.08896 g Hämoglobin/100 g Körpergewicht
Alter:	46 bis 48 Tage

Die Hämoglobinmengen bei den beiden Versuchsreihen mit intramuskulärer Applikationsweise verhielten sich wie 1 : 2.
Vor dem Versuch lag das steady state zwischen 4 und 6.5 $mg \cdot dl^{-1}$.
Schon in den ersten 12 Stunden nach der Blutinjektion stieg die SBC durchschnittlich um 2 $mg \cdot dl^{-1}$ an. Dieser Anstieg setzte sich fort, bis nach 48 Stunden bei vier Tieren und 60 Stunden bei einem weiteren Tier (Nr. 23) das Maximum erreicht wurde. Nach 8 Tagen war zwar der Abfall beendet, aber nicht alle Tiere erreichten das ursprüngliche steady state: Drei Ratten zeigten Gleichgewichtskonzentrationen, die zwischen 0.5 und 1.2 mg dl^{-1} über dem Leerwert lagen. Diese Werte korrespondieren mit den Meßwerten, die 24 Stunden vor der Blutapplikation ermittelt wurden, so daß angenommen werden muß, daß die Leerwerte zum Zeitpunkt t = 0 zu niedrig sind. Zur Erklärung dieses Phänomens sei auf Abschnitt 3.4 verwiesen, in dem die Zusammenhänge zwischen SBC-Schwankungen und Nahrungs-und Wasseraufnahme näher dargestellt werden.
S. Tabelle 7 und Abbildung 9.

Versuche 6 und 7 (Tiere 26 bis 33)

Applikationsweise:	intraperitoneal
Dosis:	0.16 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.0448 und 0.0344 g Hämoglobin/100 g KG
Alter:	32 bis 33 und 43 Tage

Da sich im Verlaufe der Versuche herausgestellt hatte, daß bei intraperitonealer Gabe im Gegensatz zu den Versuchen mit subkutaner bzw. intramuskulärer Applikation der Bilirubin-Peak deutlich früher als der bis dahin gewählte erste Meßpunkt nach 24 Stunden lag, wurde der Versuch an drei Tieren wiederholt. Durch häufigere Messungen wurde das Verhalten der Konzentrations-Zeit-Funktion genauer erfaßt (dies gilt auch für

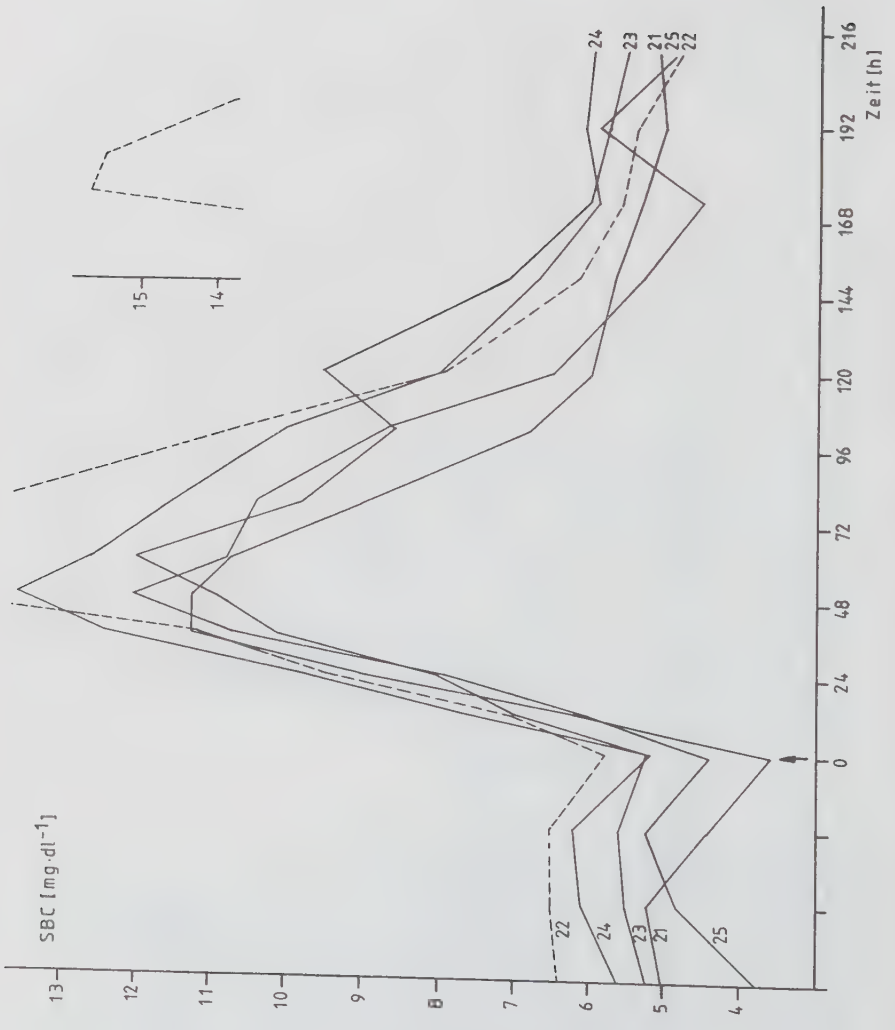


Abb. 9 Änderung der SBC nach Applikation von 0.32 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht intramuskulär

die folgenden Versuche 8 und 9). Da die Tiere dieselbe Blutmenge - mit allerdings unterschiedlichem Hämoglobingehalt (bedingt durch verschiedene Blutkonserven) - erhielten, werden diese beiden Versuche zusammen betrachtet.
Während das steady state der Gruppe 6, die 10 Tage jünger als Gruppe 7 war, vor dem Versuch erhebliche Schwankungen zeigte, lagen die Werte der Gruppe 7 durchschnittlich um 1 $mg \cdot dl^{-1}$ niedriger und waren sehr konstant.
Schon nach 2 Stunden war bei Gruppe 7 der SBC-Anstieg meßbar und nach 6 Stunden deutlich. Beide Gruppen erreichten das

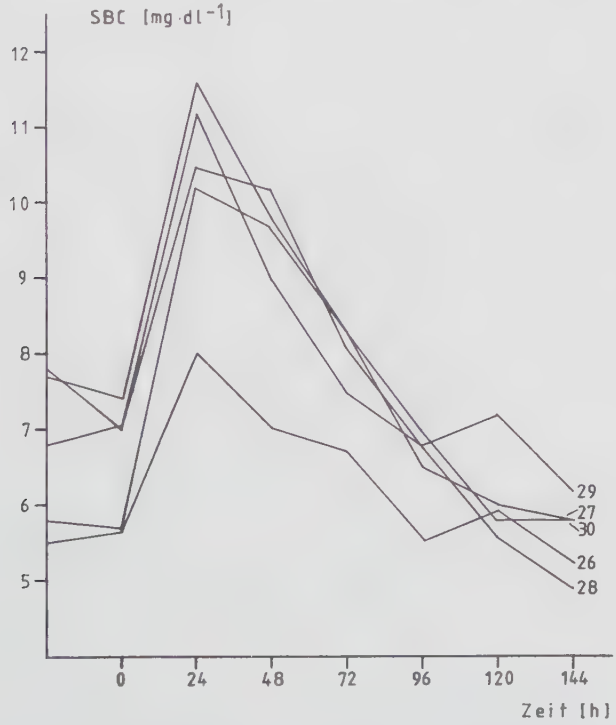


Abb. 10 Änderung der SBC nach Applikation von 0.16 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht intraperitoneal (Versuch 6)

SBC-Maximum zwischen 24 und 36 Stunden, wobei die Werte der Gruppe 7 - wie aufgrund der kleineren applizierten Hämoglobinmenge erwartet - etwas niedriger als die der Gruppe 7 lagen. Nach Erreichen des Maximums erfolgte ein rascher Abfall, und die Ausgangswerte wurden durchschnittlich am 3. bis 4. Tag wieder erreicht.
Das neue steady state lag bei Gruppe 6 etwas unter dem ursprünglichen, bei Gruppe 7 behielten zwei Tiere ihre Ausgangswerte konstant bei, Tier 33 lag deutlich unter dem alten steady state (welches aufgrund mangelnder Gewichtszunahme vor dem Versuch wahrscheinlich zu hoch war; s. auch Abschnitt 3.4).
S. auch Tabelle 7 und Abbildungen 10 und 11.

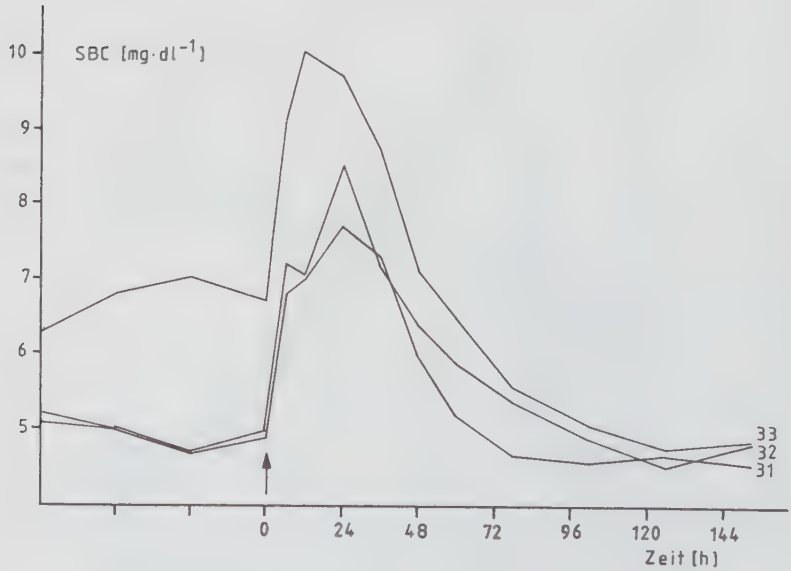


Abb. 11 Änderung der SBC nach Applikation von 0.16 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht intraperitoneal (Versuch 7)

Versuche 8 und 9 (Tiere 34 bis 41)

Applikationsweise: intraperitoneal
Dosis: 0.32 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt: 0.089 und 0.0688 g Hämoglobin/100 g KG
Alter: 32 bis 33 und 43 Tage

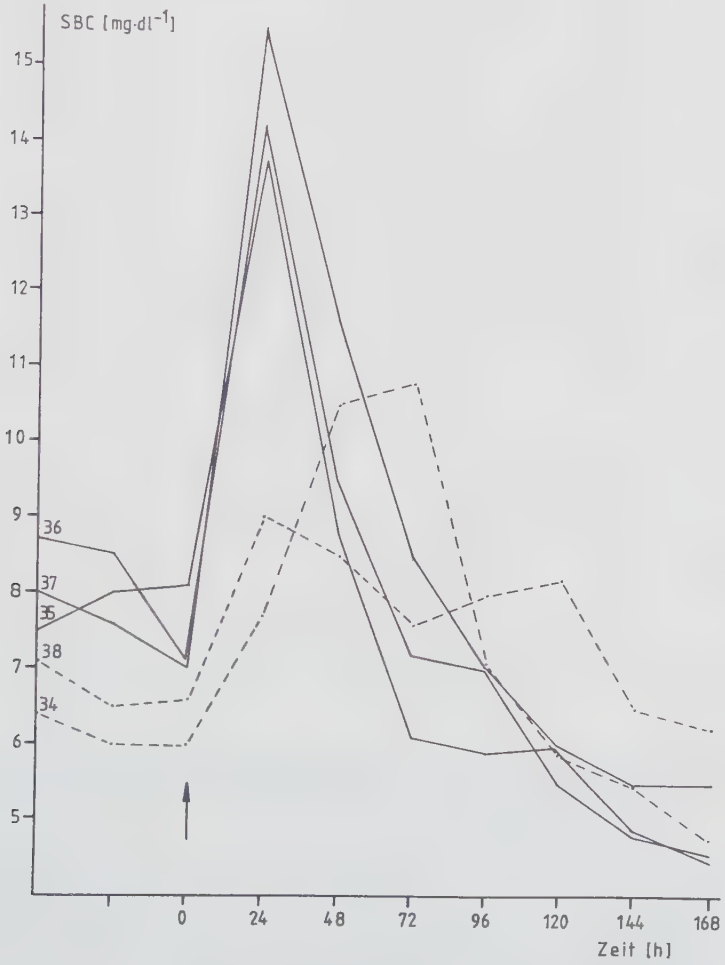


Abb. 12 Änderung der SBC nach Applikation von 0.32 ml Erythrozyten-Sediment/100 g KG intraperitoneal (Versuch 8)

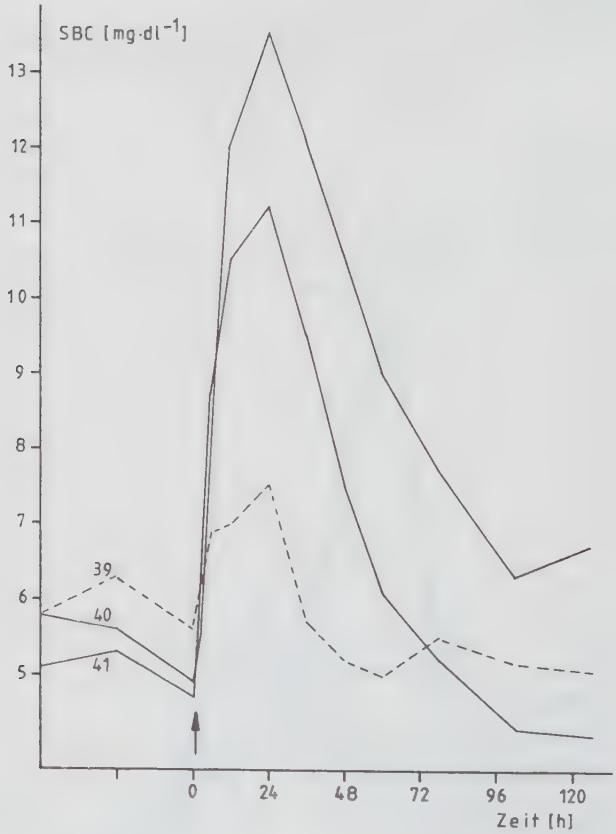


Abb. 13 Änderung der SBC nach Applikation von 0.32 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht intraperitoneal (Versuch 9)

Für die unterschiedlichen Meßzeiten sowie die verschiedenen applizierten Hämoglobinmengen gilt das zu den vorhergehenden Versuchen 6 und 7 Gesagte entsprechend.
Bei der jüngeren Gruppe 8 schwankte das steady state vor dem Versuch zwischen 6 und 8.5 $mg \cdot dl^{-1}$, bei der älteren Gruppe 9

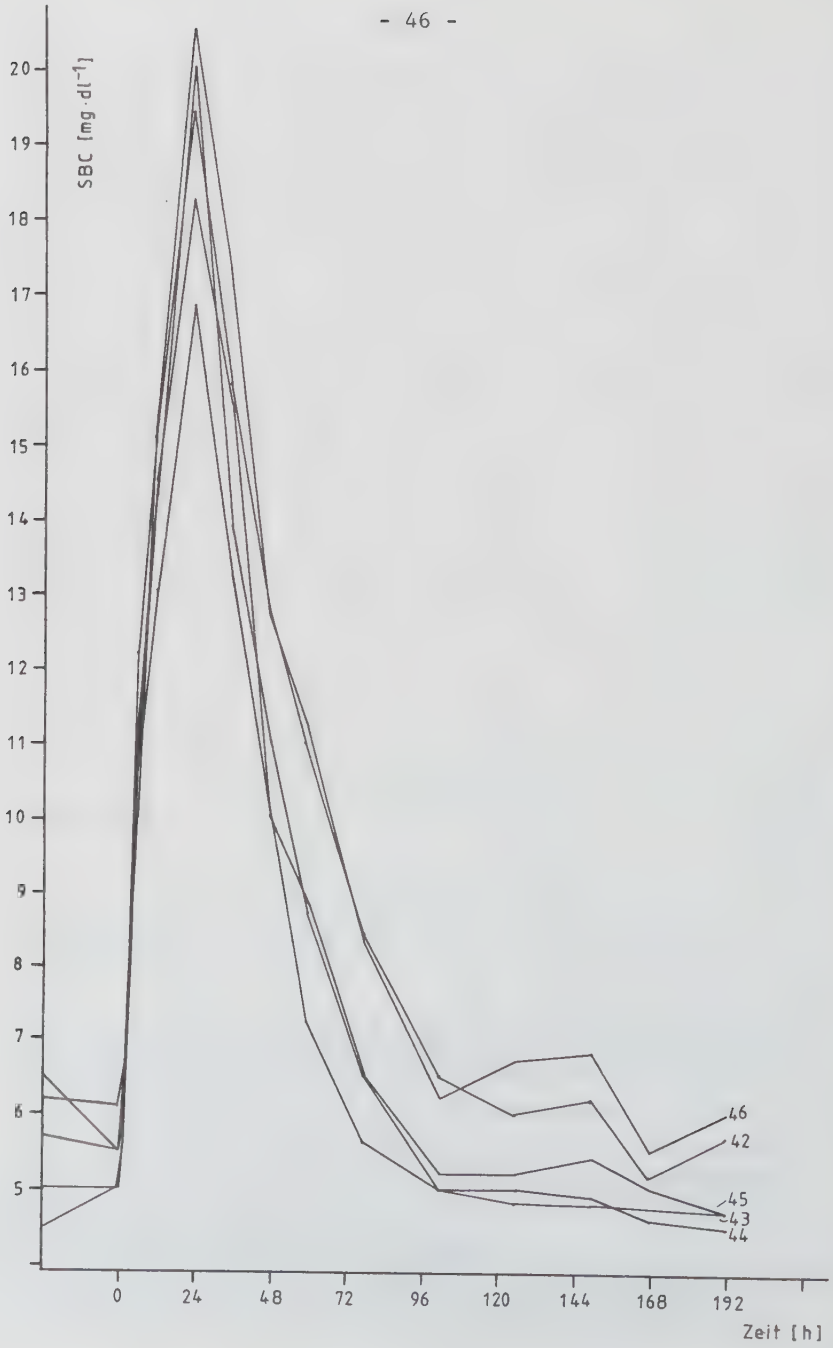
zwischen 4.5 und 6.3 $mg \cdot dl^{-1}$. Nach der Blutapplikation erfolgte ein steiler Anstieg mit einem Maximum zwischen der 12. und 24. Stunde. Die Kurven der Tiere 34, 38 und 39 zeigten einen sehr niedrigen und verzögerten Anstieg sowie einen langsameren Abfall, so daß daraus auf eine fehlerhafte Injektionstechnik geschlossen werden mußte. Da ein Teil des Blutes wahrscheinlich in die Bauchdecke bzw. in das Darmlumen gespritzt wurde, werden diese Tiere von der weiteren Betrachtung ausgenommen (in den graphischen Darstellungen sind die Kurvenverläufe gestrichelt eingezeichnet). Bei den übrigen Tieren der Gruppe 8 unterschritt die SBC das ursprüngliche steady state am 3. und 4. Tag, fiel danach noch weiter ab und stellte sich auf einem neuen Niveau etwa 1 bis 4 $mg \cdot dl^{-1}$ unter dem alten ein. Von den beiden Tieren der Gruppe 9 erreichte Tier 41 das steady state ebenfalls am 4. Tag, Tier 40 dagegen gar nicht, was auf eine mangelhafte Gewichtszunahme in diesen Tagen zurückzuführen ist, so daß tatsächlich von einem niedrigeren steady state auszugehen ist (s. auch Abschnitt 3.4).
S. Tabelle 7 und Abbildungen 12 und 13.

Versuch 10 (Tiere 42 bis 46)

Applikationsweise:	intraperitoneal
Dosis:	0.64 ml Erythr.-Sed./100 g Körpergewicht
Hb-Gehalt:	0.1376
Alter:	41 bis 42 Tage

Die hier gespritzte Hämoglobinmenge verhielt sich zur Hämoglobindosis in Versuch 6 nicht wie geplant 1 : 4, sondern nur wie 1 : 3 (s. auch Tab. 8).
Diese Versuchsgruppe zeigte vor und nach dem Versuch ein sehr konstantes steady state zwischen 4 und 6 $mg \cdot dl^{-1}$. Der SBC-Anstieg erfolgte sehr steil bis zu einem Maximum bei etwa 24 Stunden. Danach fiel die SBC rasch ab und erreichte die Ausgangswerte am 5. Tag. S. Tab. 7 und Abb. 14.

Abb. 14 (folgende Seite) Änderung der SBC nach Applikation von 0.64 ml Erythrozyten-Sediment/1oo g Körpergewicht intraperitoneal


SBC [mg·dl⁻¹]
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
0
24
48
72
96
120
144
168
192
Zeit [h]
46
42
45
43
44

Versuchsreihe	Tier (lfd. Nr.)	Leerwert zur Zeit t = 0 (mg dl^{-1})	Zeitpunkt des gemessenen SBC-Maximums (h)	Maximaler SBC-Anstieg über den Leerwert (mg dl^{-1})	Dauer bis zum Erreichen des Leerwertes (h)	neues steady state: gleichbleibend = höher + niedriger -
1	1	7.2	72	3.3	120	-
	2	5.5	96	1.0	144	-
	3	6.5	72	2.7	120	-
	4	6.3	48	2.2	96	-
	5	6.0	48	2.0	144	=
2	6	3.8	48	3.6	168	=
	7	3.8	48	5.8	120	=
	8	3.0	48	5.8	144	=
	9	3.3^{+}	72	8.7	$\emptyset^{++}$	=
	10	3.4^{+}	72	6.6	$\emptyset^{++}$	=
3	11	4.7	78	7.9	170	=
	12	5.8	78	9.7	170	=
	13	6.8	60	8.0	170	=
	14	5.8	48	7.0	150	=
	15	4.8	78	6.7	170	=
4	16	6.3	48	2.0	168	=
	17	6.0	48	1.6	144	-
	18	6.0	48	4.3	192	=
	19	6.3	48	2.9	120	-
	20	6.4	48	3.7	120	-
5	21	3.6^{+}	36/48	7.6	$\emptyset^{++}$	=
	22	5.8	48	9.7	174	-
	23	5.2	60	6.8	$\emptyset$	=
	24	5.2^{+}	48	8.4	174	=
	25	4.4	48	7.6	174	+

Tab. 7 (Fortsetzung folgende Seite)

Versuchsreihe	Tier (lfd. Nr.)	Leerwert zur Zeit t = 0 (mg dl^{-1})	Zeitpunkt des gemessenen SBC-Maximums (h)	Maximaler SBC-Anstieg über den Leerwert (mg dl^{-1})	Dauer bis zum Erreichen des Leerwertes (h)	neues steady state: gleichbleibend = höher + niedriger -
6	26	5.7	24	2.3	96	=
	27	7.4	24	4.2	96	=
	28	7.0	24	3.5	96	-
	29	7.0	24	4.2	96	-
	30	5.7	24	4.5	120	=
7	31	4.9	24	2.8	78	=
	32	5.0	24	3.5	100	=
	33	6.7	12	3.0	60	-
8	34	6.0	72	4.7*	120	=
	35	8.1**	24	5.6	72	-
	36	7.1	24	7.1	96	-
	37	7.0	24	8.5	96	-
	38	6.6	24	2.4*	144	-
9	39	5.6	24	1.9*	48	-
	40	4.9	24	8.6	Ø	+
	41	4.7	24	6.5	100	-
10	42	6.1	24	13.3	126	=
	43	5.0	24	11.8	100	=
	44	5.0	24	15.0	100	=
	45	5.5	24	12.7	100	=
	46	5.5	24	15.0	170	+

Tab. 7

+ der Leerwert lag deutlich unter dem steady state

Ø die Tiere unterschritten während des Meßzeitraumes nicht den Leerwert

++ unter Berücksichtigung eines höheren steady states, als

durch den Leerwert ausgedrückt wird, erreichten auch diese Tiere die Ausgangswerte

* die Meßwerte lassen auf eine fehlerhafte Injektionstechnik schließen

** der Leerwert lag deutlich über dem durchschnittlichen steady state vor dem Versuch

	s.c.	i.m.	i.p.
0.16 ml Ery.-Sed./ 100 g KG	0.0448	0.0448	0.0448 (Vers.6) 0.0344 (Vers.7)
0.32 "	0.0832	0.0889	0.0889 (Vers.8) 0.0688 (Vers.9)
0.64 "	0.1376	-	0.1376

Tab. 8 Übersicht über den Hämoglobingehalt der jeweiligen applizierten Blutdosen (in g/100 g Körpergewicht)

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse (Versuch 1 bis 10)

Allein aufgrund der Kurvenverläufe können folgende Aussagen gemacht werden:

1. Die parenterale Applikation von Blut führt bei der Gunn-Ratte zu einem vorübergehenden Anstieg der SBC.
2. Der SBC-Anstieg ist von der jeweiligen Dosis des zugeführten Blutes bzw. des darin enthaltenen Hämoglobins abhängig, so daß eine Verdoppelung oder Verdreifachung der applizierten Hämoglobinmenge zu einem doppelt bzw. dreifach so großen SBC-Anstieg über das steady state hinaus führt.
3. Die Applikation gleich großer Hämoglobindosen in unterschiedliche Gewebe bewirkt einen gleich großen Anstieg der SBC.
4. Der Konzentrations-Zeit-Verlauf hängt vom Applikationsort ab. Am schnellsten wird der Bilirubin-Peak bei intraperitonealer Gabe erreicht, bei intramuskulärer in etwa der doppelten Zeit und mit einer weiteren kleinen Verzögerung bei subkutaner Applikation. Dem Anstieg entsprechend verläuft auch der Abfall der SBC unterschiedlich schnell, so daß nach intraperitonealer Gabe schmale, hohe Meßkurven und nach intramuskulärer und subkutaner Gabe breitere, flachere Kurven resultieren.
5. Aus dem Vergleich der steady state-Werte vor und nach Versuchsdurchführung geht hervor, daß sich das Konzentrationsgleichgewicht entgegen den Angaben in der Literatur (42) bei einigen der 30 Tage alten Tiere wahrscheinlich noch nicht eingestellt hatte, obwohl aus den vielfachen Leerwertmessungen vor Versuchsbeginn bei keiner Tiergruppe eine fallende Tendenz zu erkennen war. Während also die Versuchsgruppen 2, 3, 5, 7, 9 und 10 durchaus konstante Werte aufwiesen, stellte sich bei den Gruppen 1, 4, 6 und 8 das neue Konzentrationsgleichgewicht am Versuchsende auf einem vergleichsweise niedrigeren Niveau ein. Da auch bei den jüngeren Tieren der Kontrollversuche im Verlaufe der Mes-

sungen eine Senkung des steady states auftrat (s. Abschnitt 3.3),ist eine Enzyminduktion durch das vermehrte Bilirubinangebot infolge Hämoglobinabbaus nicht anzunehmen. Neben verschiedenen Stressoreffekten ist wohl in erster Linie eine physiologische Altersabhängigkeit zu diskutieren.

6. Über den Grad der Resorption und der Umwandlung von Hämoglobin in Bilirubin lassen sich unmittelbar aus den Meßkurkeine Aussagen ableiten.

3.2 Ergebnisse des Versuches 11 (Tiere 47 bis 51)

Applikationsweise: oral
Dosis: 0.64 ml Erythrozyten-Sediment/100 g KG

Dieser Versuch wird aus der weiteren Betrachtung ausgenommen, da die Tiere zwar 4.5 Stunden nach der Blutsondierung SBC-Anstiege zwischen 0.3 und 1.3 mg dl^{-1} (im Mittel 0.8 mg dl^{-1}) aufwiesen, in den letzten 24 Stunden vor der Sondierung aber SBC-Senkungen, die zum Teil größer als der folgende Anstieg waren.
Der leichte SBC-Anstieg läßt sich durch mangelnde Futteraufnahme infolge Störung des Appetits durch die Blutgabe erklären (s. auch Abschnitt 3.4).
Die Darmpassage war rasch: Schon nach vier Stunden traten Teerstühle auf, und nach 10 Stunden setzten die Ratten wieder normal gefärbte Stühle ab. Eine Ratte entwickelte eine Diarrhoe.

3.3 Ergebnisse der Kontrollversuche 13 bis 20 (Tiere 57 bis 80)

Die jeweils zum Hauptversuch parallel laufenden Kontrollversuche sollen hier gemeinsam betrachtet werden. Einzelheiten zum Versuchsplan mit Dosierung und Applikationsort können Tab. 5 in Abschnitt 2.2 entnommen werden.
Da das Tiermaterial äußerst knapp war, wurden die Kontrollreihen nur mit je drei Tieren durchgeführt.
Wie zu erwarten war, führte die Injektion von physiologischer NaCl

in drei unterschiedlichen Dosierungen (0.16, 0.32 und 0.64 ml pro 100 g Körpergewicht entsprechend dem Volumen des Erythrozyten-Sediments) in die drei Applikationsorte (subkutan, intramuskulär und intraperitoneal) nicht zu einem Bilirubin-Anstieg im Serum. Allerdings kam es bei über 70 % der Tiere kurzfristig, d.h. innerhalb der ersten 10 bis 12 Stunden nach der Injektion, zu einem leichten SBC-Abfall um 0.3 bis 0.8 $mg \cdot dl^{-1}$, der bis zur nächsten Messung 24 Stunden nach der NaCl-Applikation wieder ausgeglichen war. Diese Beobachtung kann durch einen Volumeneffekt erklärt werden, d.h. das Einströmen der Kochsalzlösung bewirkte eine gewisse "Verdünnung" des Blutes.
Die Tiere der Versuchsreihe 14 befanden sich trotz des Alters von 34 bis 37 Tagen bei Versuchsbeginn noch nicht im steady state und wiesen mit Bilirubin-Leerwerten von 7.8, 10.0 und 10.6 $mg \cdot dl^{-1}$ die höchsten Ausgangswerte aller Versuchstiere auf. Am Ende der Meßperiode (120 Stunden) war deren SBC um 2.6, 1.8 und 2.1 $mg \cdot dl^{-1}$ gesunken.

3.4 Ergebnisse des Versuches 12 (Tiere 52 bis 56) Nüchternversuch

Die Schwankungen der SBC standen in keinem erkennbaren Zusammenhang mit dem Hämatokrit, auch dann nicht, wenn dieser infolge Nachblutens erheblich abgefallen war.
Messungen zu verschiedenen Tageszeiten (6^{oo}, 14^{oo} und 20^{oo}) ergaben keine signifikanten Differenzen.
Dagegen zeigte sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen Körpergewicht und SBC.
Während der 8 Stunden ohne Futter und Wasser verloren die Tiere durchschnittlich 6 bis 10 g an Gewicht, das waren zwischen 6 und 8.7 % des Ausgangskörpergewichtes. In demselben Zeitraum stieg das Bilirubin um 0.6 bis 2.5 $mg \cdot dl^{-1}$an, das waren zwischen 13.3 und 50 % (im Mittel 24.7 %) der Ausgangs-SBC.
Nach Beendigung der Hunger- und Durstperiode nahmen die Tiere in den folgenden 5 Stunden (3 Tiere) bzw. 22 Stunden (2 Tiere) wieder zwischen 6.6 und 11.3 g zu, das waren zwischen 5.3 und

11.2 % des Gewichtes nach dem Fasten. Zugleich fiel die SBC wieder um 0.8 bis 1.7 mg dl^{-1} ab, das waren 17.8 bis 21 % (im Mittel 19.8 %) des Wertes nach dem Fasten.
Der Hämatokrit war bei einem Tier während des Nüchternversuches um 1 % abgefallen, bei einem Tier stabil und bei den übrigen drei Tieren um 1, 2 bzw. 3 % angestiegen. Nach Gabe von Futter und Wasser fiel er um 1, 2, 3, 4 und 8 % ab.

Über den Zusammenhang zwischen Fasten und Serum-Bilirubinspiegel gibt es Untersuchungen an Sprague-Dawley-Rattenfeten, deren Mütter nüchtern gehalten wurden, sowie an neugeborenen, normalen (nicht-ikterischen) Ratten, die nach der Geburt für 3 bis 6 Stunden von ihren Müttern getrennt wurden. Bei diesen Tieren konnte ein Anstieg der Häm-Oxygenase um 50 bis 100 % verzeichnet werden, also des Enzyms, das die oxidative Spaltung des Hämringes katalysiert (82), so daß der bei den Tieren beobachtete Bilirubin-Anstieg auf einen erhöhten Häm-Abbau zurückzuführen wäre. Ob diese Untersuchungsergebnisse allerdings auch auf jugendliche Gunn-Ratten zu übertragen sind, bleibt offen.

Sicher werden auch Verschiebungen im Wasser-Elektrolyt-Haushalt Schwankungen der SBC bewirken, da Gunn-Ratten aufgrund ihrer Bilirubin-bedingten Nephropathie den Urin nicht genügend konzentrieren können und einen größeren Wasserbedarf als gesunde Ratten haben.

An manchen Tagen traten bei allen im Versuch befindlichen Tieren Schwankungen der SBC in gleichsinniger Richtung (also entweder Erhöhung oder Erniedrigung) auf, so daß ein exogener, beispielsweise die Wasser- und Nahrungsaufnahme beeinflussender (Stress- ?) Faktor angenommen werden mußte, da die übrigen Umgebungsparameter konstant gehalten wurden. Besonders deutlich wird dieses Phänomen in Versuch 5 (s. Abb. 9). In den 24 Stunden vor der Blutapplikation erfolgte bei allen 5 Tieren ein SBC-Abfall um durchschnittlich 0.74 (0.4 - 1.0) $mg.dl^{-1}$.
Da die täglichen Gewichtskontrollen während der Versuche eine Zuordnung der Gewichtsschwankungen zu verändertem Freß- oder

verändertem Trinkverhalten nicht erlaubten,wurde auch in Versuch 12 nicht weiter zwischen Fasten und Dursten unterschieden.

3.5 Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen

Die hämatologischen Untersuchungen dienten einer groben Orientierung über die Blutparameter der verwendeten Tiere, die sich in einem Alter befanden, in dem große Schwankungen noch physiologisch sind. Stabile Erwachsenen-Werte werden erst mit ca. 4 Monaten erreicht. Bei verschiedenen Rassen, verschiedenen Zuchten derselben Rasse und sogar beim selben Tier ist mit erheblichen Unterschieden zu rechnen. So sind Schwankungen der Erythrozytenzahlen um eine Million und darüber innerhalb weniger Tage nicht ungewöhnlich. Ferner hat die Art der Diät einen Einfluß auf das Blutbild (32).
Bei Gunn-Ratten liegen Erythrozytenzahl, Hämoglobin-Gehalt und Hämatokrit um etwa 10 % unter den Werten normaler Labor-Ratten (53).
Trotz des beschränkten Datenmaterials ist der Tabelle 9 zu entnehmen, daß sich die Blutbilder heterozygoter und homozygoter Gunn-Ratten nicht wesentlich unterscheiden und Schwankungen in erster Linie altersabhängig sind.
Von großem Einfluß waren die häufigen Blutentnahmen, die zu einer mehr oder minder starken Anämisierung mit nachfolgender Retikulozytose führten. Da das totale Blutvolumen relativ klein ist - die Angaben in der Literatur schwanken zwischen 4 und 8 ml Blutvolumen / 100 g Körpergewicht, wobei zu beachten ist, daß das relative Blutvolumen mit steigendem Gewicht abnimmt (9, 12, 73) - tolerieren die Tiere regelmäßige Blutentnahmen nur bis zu 50 µl/100 g Körpergewicht (12, 33). Während der Versuche wurde den Ratten täglich ein- bis mehrmals die doppelte Blutmenge abgenommen.
Aus den oben genannten Gründen sind die Retikulozytenzahlen (s. Abb. 15), die während der Hauptversuche ermittelt wurden, nicht brauchbar zur späteren Berechnung der Erythrozyten-Überlebenszeit (mit deren Hilfe wiederum die Bildungsgeschwindig-

Tab. 9 Blutbilder heterozygoter und homozygoter Gunn-Ratten verschiedenen Alters

(wegen der kleinen Tierzahlen sind nur Mittelwerte angegeben)

	Heterozygote Gunn-Ratten				Homozygote Gunn-Ratten	
Anzahl/ Geschlecht	3 / ♀	2 / ♀	1 / ♀	3 / ♀	3 / ♂	3 / 2 ♀, 1 ♂ (11. Blutentnahme)
Alter (Tage)	27	32	42	50	52	50
Gewicht (g)	63	79	138	130	169	138
Hämatokrit (%)	35.1	32.9	37.9	38.3	38.4	26.8
Erythrozyten (/pl)	5.97	5.68	6.79	7.05	7.25	4.44
Retikulozyten (‰)	177	130 (n=3)	101 (n=3)	58	49	158 (n=5)
Hämoglobin (g/dl)	12.87	12.65	14.2	14.0	14.43	9.67
MCV (£l)	60	59	57	55	54	62
Leukozyten (/nl)	9.03	13.6	15.6	15.1	15.97	25.47

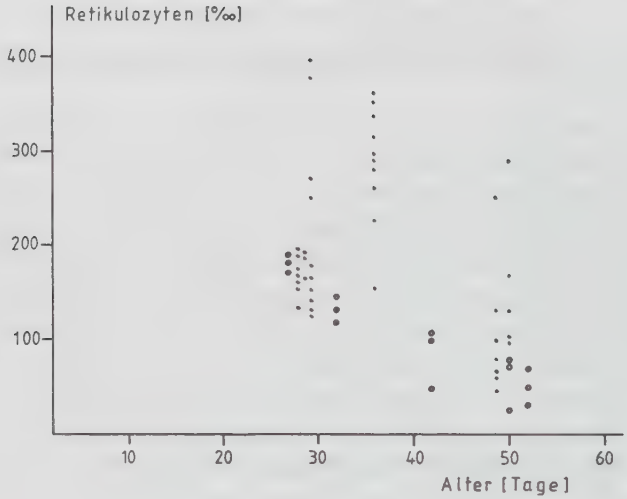


Abb. 15 Retikulozyten in ‰ der Erythrozyten in Abhängigkeit vom Lebensalter

- ∘ Werte von homo- und heterozygoten Tieren bei der ersten Blutentnahme
- · Werte von homozygoten Tieren während der Versuche (nachdem bereits mehrere Blutentnahmen vorangegangen waren:
  2 - 3 Blutentnahmen bei den ca. 28 Tage alten Tieren,
  10 Blutentnahmen bei den 35 Tage alten Tieren,
  10 - 15 Blutentnahmen bei den 50 Tage alten Tieren)

keit des Bilirubins berechnet werden kann; s. auch S. 92). Dagegen entsprachen die Retikulozytenzahlen, die bei einmaliger Blutentnahme von nicht im Versuch befindlichen Tieren bestimmt wurden, der in der Literatur angegebenen Streuung. Während die

Erythrozyten neugeborener Ratten zu 95 % retikularisiert sind, betragen die Retikulozytenzahlen drei Monate alter Tiere im Mittel 33 ‰ bei Weibchen und 43 ‰ bei Männchen. Normal sind Werte bis 100 ‰ und spontane tägliche Schwankungen um 50 ‰ (20).

Der Hämatokrit der Versuchstiere (s. Tab. 10) entsprach dem in der Literatur angegebenen. Während adulte Gunn-Ratten einen Hämatokrit von 45.9 % (Weibchen) bzw. 49.4 % (Männchen) haben, beträgt er bei zwei bis drei Wochen alten Tieren im Mittel 35.3 % (41). Auf teilweise erhebliche Hämatokritabfälle infolge Nachblutens wurde weiter oben (s.S. 27) hingewiesen.

Alter zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (Tage)	26 - 27		35 - 45	
Geschlecht	♀ (n = 10)	♂ (n = 10)	♀ (n = 16)	♂ (n = 10)
Hämatokrit bei der ersten Blutentnahme (%)	35.4 ± 2.2	34.8 ± 1.8	39.9 ± 2.2	40.4 ± 2.3
Hämatokrit unmittelbar vor der Blutapplikation (%)	33.3 ± 2.2	30.9 ± 2.1	35.4 ± 4.9	36.6 ± 3.2
Hämatokrit 24 Stunden nach d. Blutappl. (%)	33.3 ± 3.3	32.4 ± 2.1	32.9 ± 6.2	34.6 ± 4.7
Hämatokrit nach Erreichen des steady states (%)	32.8 ± 1.9	31.2 ± 3.6	36.9 ± 2.8	36.8 ± 1.9

Tab. 10 Hämatokritwerte im Verlaufe der Versuche
Mittelwerte ± Standardabweichung

4. AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

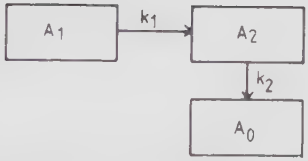
4.1 Entwicklung des pharmakokinetischen Modells

Um die Änderung der SBC nach Resorption eines Hämatoms mathematisch zu beschreiben, wurden verschiedene, von WIESE erstellte pharmakokinetische Modelle erprobt.

Das einfachste Modell I basiert auf folgenden Voraussetzungen und Überlegungen:

1. Vor Versuchsbeginn befinden sich die Tiere bezüglich ihres Bilirubingehaltes im steady state, d.h. die spontane Bildung und Elimination des Bilirubins sind gleich groß. Die steady state-Konzentration verhält sich proportional zur Bildungsgeschwindigkeit und umgekehrt proportional zur spontanen Elimination (Clearance).
2. Die Elimination des Bilirubins erfolgt sowohl im steady state als auch bei experimenteller Erhöhung der SBC durch dieselben Mechanismen, d.h. die Eliminationskonstante beschreibt prinzipiell die Bilirubin-Ausscheidung.
3. Die SBC spiegelt den Gehalt des gesamten Bilirubins im Körper der Ratte wieder. Wird mehr Bilirubin als im steady state gebildet, dann kommt es zu einem Bilirubin-Anstieg in allen Bereichen des Körpers, wobei das Kompartiment "Blut" ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen allen Kompartimenten ermöglicht.

Setzt man ein Depot eines exogenen, resorbierbaren Stoffes, so kommt es zu einer Resorption des Stoffes aus dem Depot und zu einem Anstieg der Serumkonzentration. Gleichzeitig erfolgt eine zunehmende Elimination des Stoffes aus dem Intravasalraum. Der Konzentrations-Zeit-Verlauf des Stoffes im Serum zeigt also anfänglich einen steilen Anstieg, flacht dann immer mehr ab bis zu einem Maximum und fällt dann wieder ab.
Die Versuchsbedingungen lassen sich durch folgendes Blockdiagramm beschreiben:



Modell I

wobei A_1 = Applikations- oder Eingangskompartiment (z.B. Muskel)
A_2 = Meßkompartiment (Blut)
A_0 = Ausscheidungskompartiment (Extrakorporalraum)
k_1 = Invasionskonstante
k_2 = Eliminationskonstante

Die Invasionsgeschwindigkeit in den Intravasalraum ist gleich der negativen Eliminationsgeschwindigkeit aus dem Depot:

$$\frac{dc}{dt} = c_o \cdot k_1 \cdot e^{-k_1 \cdot t}$$

Gleichzeitig wird der Stoff aus dem Intravasalraum eliminiert:

$$\frac{dc}{dt} = - k_2 \cdot c$$

wobei c_o = Konzentration des Stoffes im Depot vor Beginn der Resorption
t = Resorptionsdauer
c = Konzentration des Stoffes im Serum nach der Resorptionsdauer t
k_1 = Geschwindigkeitskonstante der Resorption
k_2 = Geschwindigkeitskonstante der Elimination aus dem Serum

Damit gilt für die globale Transportgleichung:

$$\frac{dc}{dt} = c_o \cdot k_1 \cdot e^{-k_1 \cdot t} - k_2 \cdot c$$

Durch Integrieren erhält man die Bateman-Gleichung:

$$c = a \cdot \frac{k_1}{k_2 - k_1} \left(e^{-k_1 \cdot t} - e^{-k_2 \cdot t}\right)$$

wobei a = Konzentration des Stoffes, wenn er als Bolus intravenös appliziert worden wäre zum Zeitpunkt t = 0. a ist also die fiktive Ausgangskonzentration, die sich bei sofortiger Verteilung der gesamten Dosis im wirksamen Verteilungsvolumen ergeben würde.

$$a = \frac{D}{V}$$ wobei D = applizierte Dosis
V = Verteilungsvolumen

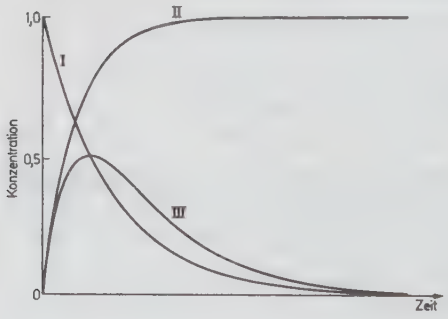


Abb. 16 Darstellung der Bateman-Funktion (in (30))

I reine Elimination (bei i.v.-Gabe)
II reine Invasion aus einem Depot
III Kurvenverlauf bei gleichzeitig stattfindender Invasion und Elimination

Die Bateman-Funktion beschreibt also die Resorption eines exogenen Stoffes aus einem Depot in den Intravasalraum und die gleichzeitige Elimination aus dem Intravasalraum.

Da es sich beim Bilirubin um einen endogenen, also im Körper selbst gebildeten Stoff handelt, muß das körpereigene Fließgleichgewicht berücksichtigt werden, und die Gleichung erhält die Form

$$c = c^* + a \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 \cdot t} - e^{-k_2 \cdot t})$$

wobei c^* = Serumkonzentration des Stoffes vor der Applikation.

Die Gleichgewichtskonzentration läßt sich als Quotient aus der Bildungsgeschwindigkeit und der Eliminationskonstanten (als Clearance) darstellen

$$c^* = \frac{v}{k_2}$$

wobei v = körpereigene Bildungsgeschwindigkeit des endogenen Stoffes.

Die Bildungsgeschwindigkeit von Bilirubin ist praktisch gleich der Zerfallsgeschwindigkeit des Hämoglobins. v läßt sich daher aus der mittleren Lebenszeit der Erythrozyten von Gunn-Ratten bestimmen, da Bilirubin zu 85 bis 90 % aus Hämoglobin gebildet wird.

Mit einem solch einfachen Zwei-Kompartimenten-Modell läßt sich der Konzentrations-Zeit-Verlauf nach Applikation von reinem Bilirubin recht genau beschreiben. Beim Abbau von Hämatomen sind die Verhältnisse aber insofern komplizierter, als durch die Tätigkeit der Makrophagen erst das Hämoglobin aus den Erythrozyten freigesetzt und enzymatisch zu Bilirubin umgewandelt werden muß. Ein solcher Vorgang wäre vor allem bei subkutaner und intramuskulärer Applikationsweise zu berücksichtigen, da in diesem Falle ein Zeitraum bis zur Einwanderung der Makrophagen und der Aufnahme ihrer Tätigkeit angenommen werden muß.

Der Versuch, den verzögerten Anstieg der SBC nach s.c.- bzw. i.m.-Gabe durch Einfügen eines Zeitfaktors t_o in die Bateman-

Gleichung besser zu beschreiben,

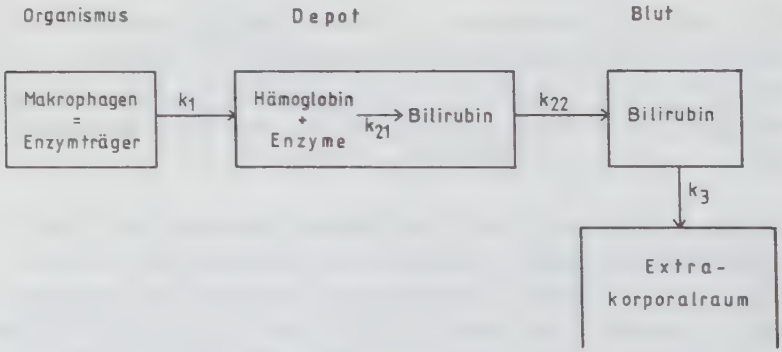
$$c = c^* + a \frac{k_1}{k_2 - k_1} \left(e^{-k_1(t-t_o)} - e^{-k_2(t-t_o)} \right)$$

wobei t_o = Latenzzeit

führte nicht zu einer verbesserten Beschreibung der Meßdaten. Deshalb wurde dieses Modell II nicht weiter berücksichtigt.

Da die genauen zeitlichen Abläufe der Makrophageneinwanderung, der Phagozytose und des Hämoglobinabbaus nicht bekannt sind, wird im folgenden Modell III von den Makrophagen global als den "Enzymträgern" gesprochen, und die einzelnen Schritte der Makrophagentätigkeit sowie die verschiedenen enzymatischen Reaktionen bis zur Freisetzung des Bilirubins werden als ein einziger Vorgang aufgefaßt.

Im Blockdiagramm stellen sich dabei die Vorgänge folgendermaßen dar



Hierbei sollen folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Der Gehalt des vom Organismus zur Verfügung gestellten Enzymsystems sei gegenüber dem zu metabolisierenden Hämoglobin so groß, daß der Übergang des Enzyms in das Depot nur vom jeweiligen Hämoglobingehalt im Depot abhängig ist. Es soll also durch den Hämoglobinabbau kein Mangel an Enzym im Organismus auftreten. Aber auch eine Anreicherung von Enzym im

Depot sei ausgeschlossen.
In diesem Fall läßt sich das obige System durch folgende Reaktionsfolge beschreiben:

$$A_o \xrightarrow[k_1]{} A_1 \xrightarrow[k_{21}]{} A_2 \xrightarrow[k_{22}]{} A_3 \xrightarrow[k_3]{} A_4$$

mit den Kompartimenten A_o (reaktiviertes Enzymsystem), A_1 (Hämoglobingehalt), A_2 (Bilirubinkonzentration extravasal), A_3 (Bilirubinkonzentration intravasal) und A_4 (Ausscheidungskompartiment).
Der jeweilige Übergang von einem Kompartiment in das andere wird durch die Geschwindigkeitskonstanten k_1 bis k_3 beschrieben.

2. Um die Zahl der Parameter zu verringern, sei angenommen, daß sich die Reaktionsfolge

$$A_1 \xrightarrow[k_{21}]{} A_2 \xrightarrow[k_{22}]{} A_3$$

als eine einzige Reaktion

$$A_1 \xrightarrow[k_2]{} A_3$$

beschreiben lasse. Dies gilt zum Beispiel dann, wenn $k_{21} >> k_{22}$ oder $k_{21} << k_{22}$.

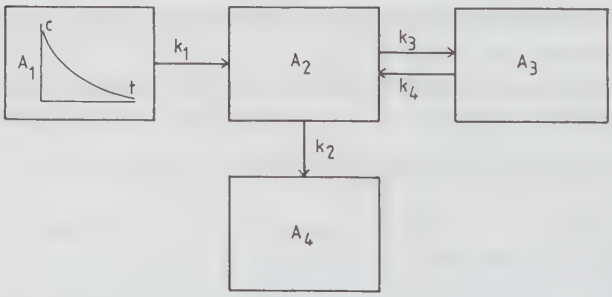
Für die Bilirubinkonzentration im Serum gilt dann

$$c = c^* + a \cdot k_1 \cdot k_2 \left(\frac{e^{-k_1 t}}{(k_2-k_1)(k_3-k_1)} + \frac{e^{-k_2 t}}{(k_1-k_2)(k_3-k_2)} + \frac{e^{-k_3 t}}{(k_2-k_3)(k_1-k_3)} \right)$$

wobei jetzt k_1 = Geschwindigkeitskonstante der Freisetzung von Hämoglobin
k_2 = Geschwindigkeitskonstante der Bildung und Resorption von Bilirubin
k_3 = Eliminationskonstante (vorher k_2)

Mit diesem Modell III gelang für alle drei Applikationsarten eine verbesserte Beschreibung der Meßdaten.

Der Nachteil der bisher abgeleiteten Modelle liegt darin, daß ein linearer Mechanismus angenommen wird: Das Substrat aus A_o geht in A_1 über, nach chemischer Veränderung geht es in A_3 über und von dort in A_4. In der Realität muß man aber annehmen, daß sich das Bilirubin im ganzen Organismus verteilt und daß sich zwischen dem Verteilungs- und Indikatorkompartiment Blut und dem Rest-Organismus ein reversibles Gleichgewicht aufbaut.
Deshalb wurde das folgende Modell IV entwickelt:



wobei A_1 = Applikations- oder Eingangskompartiment
A_2 = Meßkompartiment
A_3 = extravasales Kompartiment
A_4 = Ausscheidungskompartiment
k_1 = Invasionskonstante
k_2 = Eliminationskonstante
k_3, k_4 = Austauschkonstanten mit dem Gewebe

Bei diesem Ansatz gilt

$$A_1(t) = a \cdot e^{-k_1 t}$$

das heißt es wird angenommen, daß der Abbau des Hämoglobins durch eine e-Funktion beschrieben werden kann.

Man erhält für

$$A_2(t)=\frac{a\cdot k_1}{Bk_1-k_1^2-k_2k_4}\left[(k_1-k_4)e^{-k_1t}+\frac{(k_1-k_4)(\lambda_2+k_2)+k_1k_3}{\lambda_1-\lambda_2}e^{\lambda_1t}-\frac{(k_1-k_4)(\lambda_1+k_2)+k_1k_3}{\lambda_1-\lambda_2}e^{\lambda_2t}\right]$$

bzw.

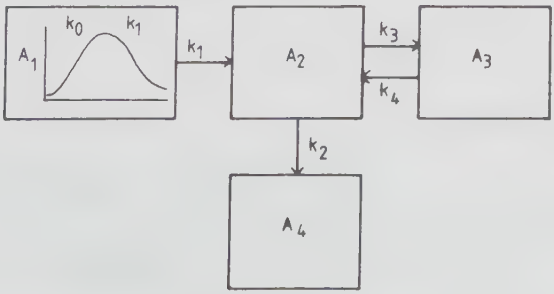
$$A_2(t)=\frac{a\ k_1}{(\lambda_1-\lambda_2)(Bk_1-k_1^2-k_2k_4)}\left[(\lambda_1-\lambda_2)(k_1-k_4)e^{-k_1t}+((k_1-k_4)(\lambda_2+k_2)+k_1k_3)e^{\lambda_1t}-\right.$$

wobei $B = k_2 + k_3 + k_4$ $\qquad\qquad \left.((k_1-k_4)(\lambda_1+k_2)+k_1k_3)e^{\lambda_2t}\right]$

$$\lambda_1 = -\frac{B}{2}+\sqrt{(\frac{B}{2})^2-k_2k_4}$$

$$\lambda_2 = -\frac{B}{2}-\sqrt{(\frac{B}{2})^2-k_2k_4}$$

Dieses Modell IV beschreibt gut die Konzentrations-Zeit-Verläufe bei intraperitonealer Applikationsweise, da die Enzymträger hier von vorneherein in hoher Konzentration vorhanden sind.
Bei subkutaner und intramuskulärer Applikation muß man davon ausgehen, daß wegen des langsamen Einstroms der Makrophagen die Geschwindigkeit des Hämoglobinabbaus nicht einer einfachen e-Funktion entspricht. Sie nimmt zu Beginn langsam zu, erreicht dann ein Maximum, um durch Substratabbau schließlich wieder abzunehmen. Der Unterschied des folgenden Modells V zu Modell IV liegt also vor allem im Anfangsbereich.



wobei k_o = Geschwindigkeitskonstante für die Bereitstellung von Enzym

k_1 = Geschwindigkeitskonstante der Bildung von Bilirubin

Erläuterung der übrigen Abkürzungen siehe Seite 64.

Es gilt

$$A_2(t)=\frac{ak_ok_1}{k_o-k_1}\left[T_o e^{-k_o t}+T_1 e^{-k_1 t}+\frac{1}{\lambda_1-\lambda_2}\left((\lambda_2+k_2+k_3)T_{o1}-k_3k_4T_{34})e^{\lambda_1 t}+(k_3k_4T_{34}-(\lambda_1+k_2+k_3)\cdot T_{o1})e^{\lambda_2 t}\right)\right]$$

Es sei

$$B = k_2 + k_3 + k_4$$

$$B_o = B\cdot k_o - k_o^2 - k_2\cdot k_4$$

$$B_1 = B\cdot k_1 - k_1^2 - k_2\cdot k_4$$

$$\lambda_1 = -\frac{B}{2}+\sqrt{(\frac{B}{2})^2 - k_2\cdot k_4}$$

$$\lambda_2 = -\frac{B}{2}-\sqrt{(\frac{B}{2})^2 - k_2\cdot k_4}$$

$$T_o = \frac{k_4-k_o}{B_o}$$

$$T_{o1} = T_o + T_1$$

$$T_1 = \frac{k_1-k_4}{B_1}$$

$$T_3 = \frac{1}{B_o}$$

$$T_{34} = T_3 + T_4$$

$$T_4 = \frac{1}{B_1}$$

Die Ableitung der Gleichung und das zugehörige Rechenprogramm finden sich im Anhang.

4.2 Pharmakokinetische Auswertung der Versuchsergebnisse

Die Variablen lassen sich aus der experimentell ermittelten Konzentrations-Zeit-Funktion mit Hilfe eines least squares Programmes bestimmen, indem durch die gemessenen Punkte eine theoretische Kurve gelegt wird, für die die Summe der Abweichungsquadrate ein Minimum ist.

Die Rechnungen wurden nach Modell V mit einem programmierbaren Taschenrechner durchgeführt[1].

Im folgenden werden zunächst in einer tabellarischen Übersicht (Tab. 11 und 12) die errechneten Parameter aller Versuche vorgestellt,

wobei a = fiktive Ausgangskonzentration des Bilirubins, wenn es als Bolus i.v. appliziert worden wäre

k_o = Geschwindigkonstante für die Bereitstellung von Enzym (h^{-1})

k_1 = Geschwindigkeitskonstante der Bildung von Bilirubin (h^{-1})

k_2 = Geschwindigkeitskonstante für die endgültige Elimination (h^{-1})

k_3, k_4 = reversible Austauschkonstanten mit dem Extravasalraum

c* = steady state ($mg.dl^{-1}$)

v = körpereigene Bildungsgeschwindigkeit für Bilirubin ($(mg.dl^{-1})^{-1}.h^{-1}$)

χ = kleinstes Fehlerquadrat

---

1) HEWLETT PACKARD 41 CX
Das Rechenprogramm wurde von G. WIESE erstellt und ist dem Anhang zu entnehmen.

Versuch	Tier Nr.	a	k_o	k_1	k_2	k_3	k_4	c*	χ
1	1	11.6	0.058	0.049	0.0298	0.19	9.0	6.00	0.7779
	2	7.0	0.078	0.022	0.0372	0.19	2.2	4.80	0.4194
	3	7.6	0.052	0.045	0.0293	0.10	4.0	6.10	0.6159
	4	7.7	0.062	0.052	0.0368	0.20	4.0	4.85	0.7416
	5	6.5	0.067	0.041	0.0319	0.17	2.0	5.60	0.2194
2	6	23.0	0.037	0.030	0.0541	0.44	2.0	3.30	0.4697
	7	25.4	0.045	0.043	0.0541	0.23	2.0	3.30	0.8142
	8	25.2	0.046	0.034	0.0638	0.40	2.8	2.80	0.6110
	9	45.0	0.029	0.027	0.0558	0.50	1.6	3.20	1.2779
	10	29.8	0.036	0.034	0.0525	0.45	2.0	3.40	0.8353
3	11	39.8	0.032	0.025	0.0482	0.40	2.8	3.70	1.1016
	12	38.5	0.032	0.031	0.0364	0.40	3.0	4.90	1.3202
	13	30.4	0.066	0.025	0.0325	0.20	2.9	5.50	0.6624
	14	21.4	0.090	0.040	0.0361	0.20	2.6	4.95	0.4975
	15	36.6	0.026	0.024	0.0446	0.42	2.4	4.00	0.8122
4	16	6.6	0.061	0.033	0.0303	0.20	1.8	5.90	0.2563
	17	4.7	0.065	0.035	0.0316	0.17	2.2	5.65	0.2318
	18	11.1	0.049	0.046	0.0305	0.18	6.0	5.85	0.4329
	19	9.2	0.061	0.052	0.0325	0.18	4.8	5.50	0.5212
	20	13.2	0.066	0.056	0.0334	0.12	2.6	5.35	0.6840
5	21	25.6	0.079	0.030	0.0420	0.17	2.0	4.25	0.4187
	22	36.9	0.047	0.032	0.0376	0.21	2.0	4.75	1.0125
	23	22.8	0.053	0.025	0.0343	0.21	1.9	5.20	0.5986
	24	26.6	0.067	0.031	0.0343	0.25	2.0	5.20	0.3871
	25	27.8	0.052	0.030	0.0410	0.19	2.1	4.35	0.5230

Tab. 11 Zusammenfassung der Parameter der Versuche 1 bis 5

v ist in allen Versuchen 0.1785

Versuch	Tier Nr.	a	k_o	k_1	k_2	k_3	k_4	c*	χ
6	26	5.3	0.150	0.077	0.0334	0	0	5.35	0.3196
	27	9.6	1.800	0.090	0.0288	0	0	6.20	0.6790
	28	11.7	0.200	0.055	0.0325	0	0	5.50	0.7637
	29	8.0	3.000	0.170	0.0279	0	0	6.40	0.3709
	30	11.0	0.200	0.050	0.0319	0	0	5.60	0.2237
7	31	7.4	1.800	0.088	0.0415	0	0	4.30	0.3047
	32	6.4	2.100	0.070	0.0372	0	0	4.80	0.3709
	33	7.6	1.500	0.140	0.0334	0	0	5.35	0.6281
8	34	nicht ausgewertet							
	35	14.8	2.200	0.220	0.0331	0	0	5.40	1.2198
	36	16.0	1.000	0.150	0.0331	0	0	5.40	0.8362
	37	18.5	0.800	0.084	0.0319	0	0	5.60	0.6142
	38	nicht ausgewertet							
9	39	nicht ausgewertet							
	40	16.5	0.650	0.064	0.0343	0	0	5.20	0.2860
	41	14.5	0.820	0.084	0.0425	0	0	4.20	0.3195
10	42	23.5	0.600	0.080	0.0325	0	0	5.50	0.6495
	43	23.0	0.400	0.088	0.0406	0	0	4.40	0.7369
	44	28.0	0.400	0.082	0.0415	0	0	4.30	0.9204
	45	25.0	0.360	0.086	0.0388	0	0	4.60	0.7566
	46	27.5	0.350	0.070	0.0350	0	0	5.10	0.8890

Tab. 12 Zusammenfassung der Parameter der Versuche 6 bis 10

v ist in allen Versuchen 0.1785

Bei der Berechnung der Meßkurven der Versuche mit intraperitonealer Applikationsweise zeigte sich, daß die Geschwindigkeitskonstanten für den reversiblen Austausch mit dem Extravasalraum (k_3 und k_4) gleich Null zu setzen waren, so daß in diesem Fall das einfachere Modell III zu denselben Ergebnissen geführt hätte wie das komplexere Modell V. Da allerdings die Indices der Geschwindigkeitskonstanten k bei beiden Modellen differieren [1], werden zum Zweck der besseren Vergleichbarkeit der Werte in der Tabelle die Bezeichnungen von Modell V verwendet.

Bei der graphischen Darstellung der errechneten Konzentrations-Zeit-Verläufe ist zu berücksichtigen, daß dem Anschein nach sehr ähnlichen Kurven völlig unterschiedliche Konstanten zugrunde liegen können.
So weisen zum Beispiel die Kurven der Tiere 1 (Versuch 1: 0.16 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht subkutan) und 8 (Versuch 2: 0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG subkutan) eine große Ähnlichkeit auf, obwohl die gespritzte Hämoglobinmenge bei Tier 8 doppelt so groß wie bei Tier 1 ist, was sich auch im doppelt so großen a ausdrückt (s. Abb. 17 und 18, sowie Tab. 13). Allerdings ist die Eliminationskonstante k_2 bei Tier 8 nur halb so groß wie bei Tier 1.
Dagegen zeigt sich beim Vergleich der Kurve von Tier 8 mit der von Tier 21 (Versuch 5: 0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG intramuskulär), daß die Kurven trotz gleicher Hämoglobindosis und gleicher a's einen unterschiedlichen Verlauf nehmen. Aufgrund der geringeren Eliminationsfähigkeit (kleineres k_2 bei Tier 21 als bei Tier 8) ist der Anstieg bei Tier 21 viel höher.

---

1) Es entsprechen bei Modell V — bei Modell III

k_o	k_1
k_1	k_2
k_2	k_3
k_3	ø
k_4	ø

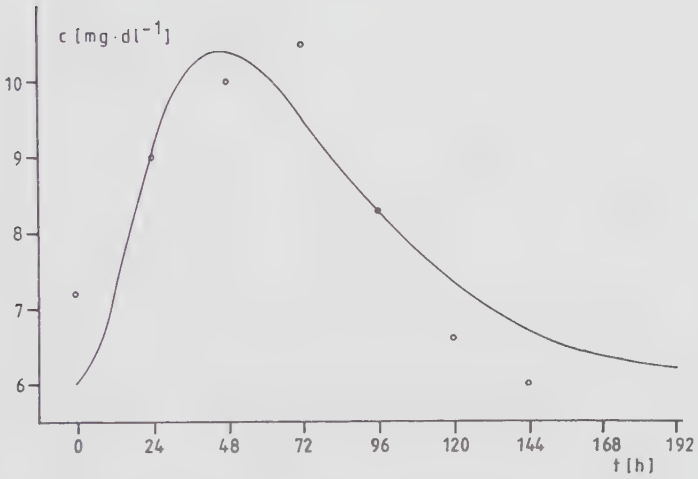


Abb. 17 Versuch 1 Tier 1 (näheres siehe Text)

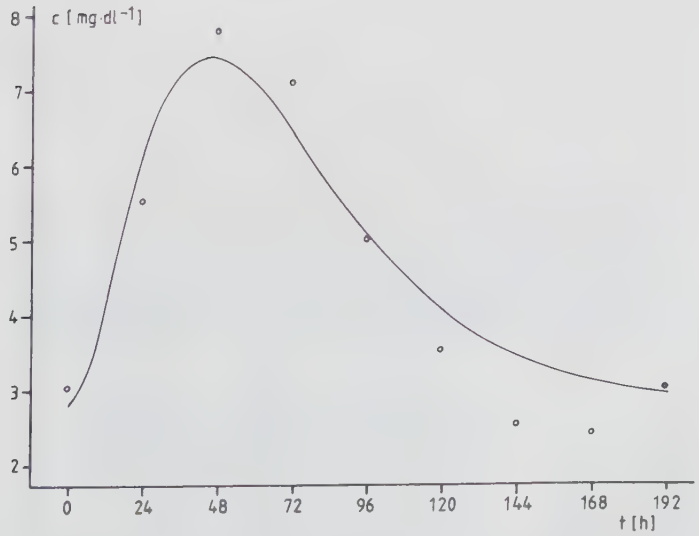


Abb. 18 Versuch 2 Tier 8 (näheres siehe Text)

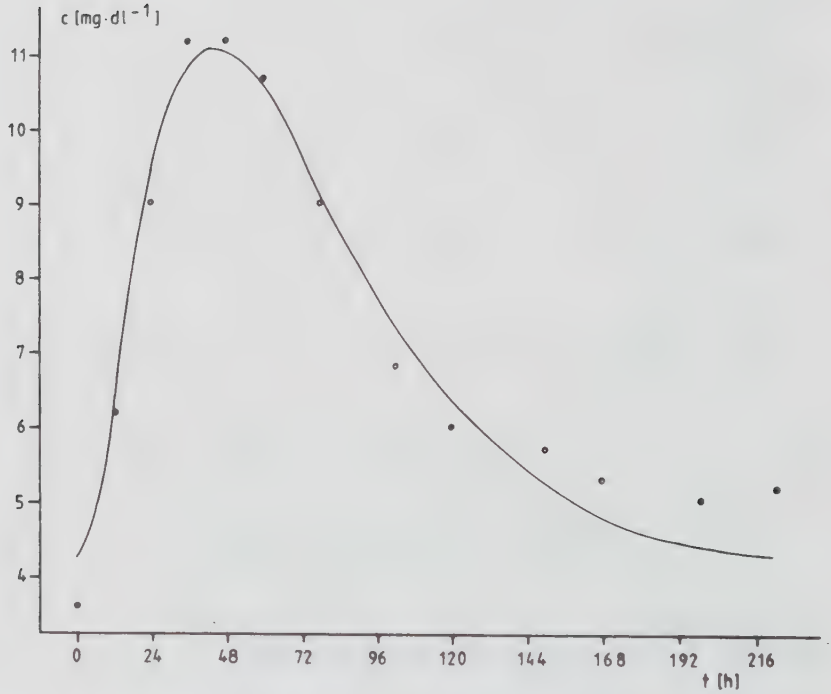


Abb. 19 Versuch 5 Tier 21 (näheres siehe Text)

Versuch/Tier	1/1	2/8	5/21
Dosis d. Ery.-Sed. (ml/100 g Körpergew.)	0.16 s.c.	0.32 s.c.	0.32 i.m.
a	11.6	25.2	25.6
k_o	0.058	0.046	0.079
k_1	0.049	0.034	0.030
k_2	0.0298	0.0638	0.0420
k_3	0.19	0.40	0.17
k_4	9.0	2.8	2.0
c*	6.00	2.80	4.25

Tab. 13 (näheres siehe Text)

Die Bildung von "Mittelwertkurven" (d.h. Kurven, die mit Hilfe der arithmetisch gemittelten Konstanten mehrerer Tiere erstellt wurden) ist daher nur sinnvoll, wenn die Parameter, vor allem k_2, sehr ähnlich sind.
Dies ist zum Beispiel der Fall bei der Versuchsgruppe 10 (0.64 ml Erythrozyten-Sediment/100 g Körpergewicht intraperitoneal). In der folgenden Abb. 20 sind die errechneten Konzentrations-Zeit-Verläufe aller Tiere der Gruppe 10 graphisch dargestellt (vergleiche mit den Meßkurven in Abb. 14).
Diesen Kurven gegenübergestellt ist in Abb. 21 eine "Mittelwertkurve", da bei diesen Tieren der SBC-Anstieg von einem stabilen steady state aus erfolgte und zudem sehr gleichförmig verlief, was sich an wenig differierenden Konstanten (s. Tab. 14) ablesen läßt. Wie ein kleines Fehlerquadrat zeigte, konnten mit den gemittelten Konstanten auch die fünf einzelnen Meßkurven noch immer befriedigend beschrieben werden. Weiterhin sind in Abb. 21 auch die gemittelten Meßwerte eingetragen (auf die Angabe der Standardabweichung wurde wegen der kleinen Versuchstierzahl verzichtet).

Versuchstier	a	k_o	k_1	k_2	c*	v
42	23.5	0.60	0.080	0.0325	5.50	0.1785
43	23.0	0.40	0.088	0.0406	4.40	0.1785
44	28.0	0.40	0.082	0.0415	4.30	0.1785
45	25.0	0.36	0.086	0.0388	4.60	0.1785
46	27.5	0.35	0.070	0.0350	5.10	0.1785
gemittelt	25.4	0.42	0.081	0.0373	4.80	0.1785

Tab. 14 errechnete Parameter zu Versuch 10 (0.64 ml Ery.-Sed./100 g KG intraperitoneal)

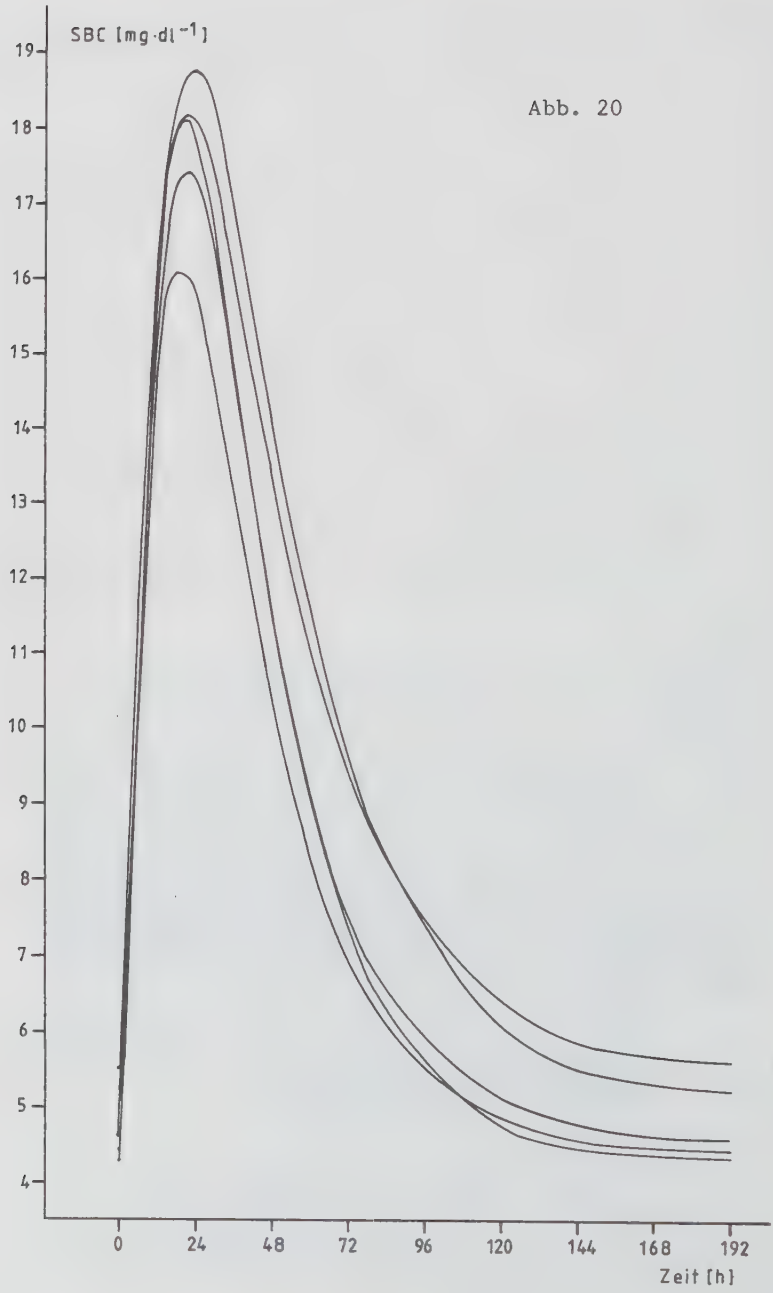

SBC [mg·dl⁻¹]
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
0
24
48
72
96
120
144
168
192
Zeit [h]

Abb. 20

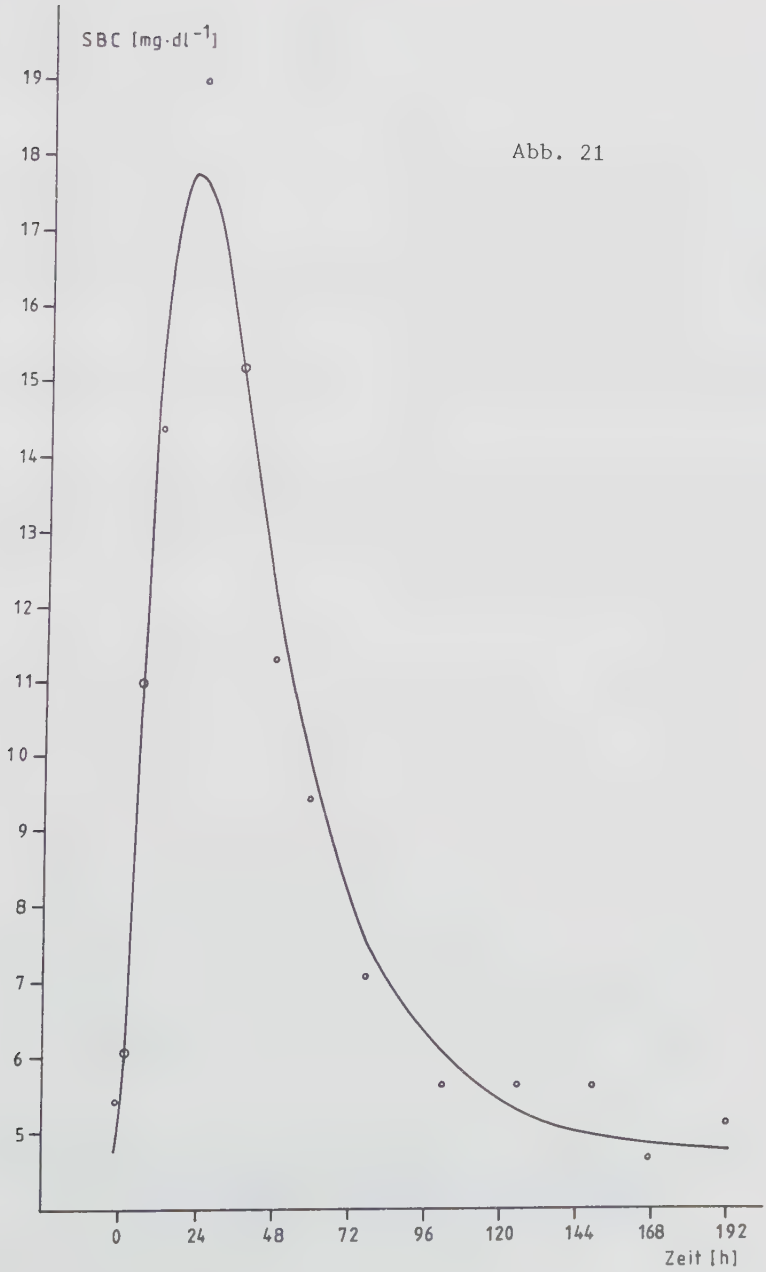

SBC [mg·dl⁻¹]
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
0
24
48
72
96
120
144
168
192
Zeit [h]

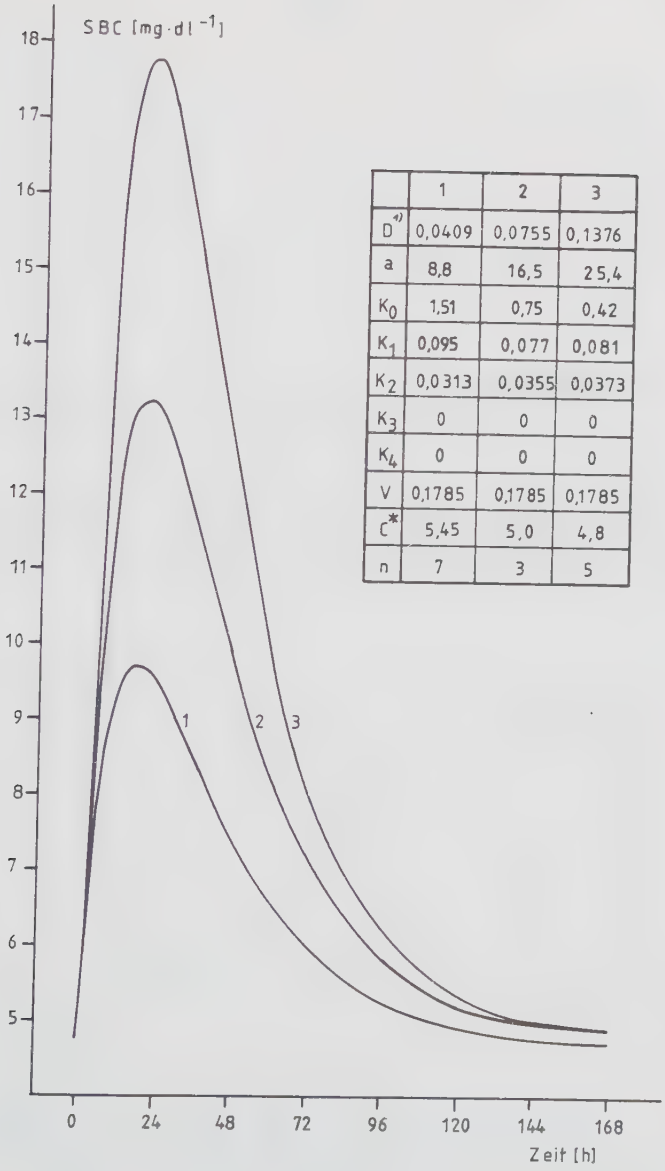
Abb. 21

Um die Dosisabhängigkeit der SBC graphisch zu veranschaulichen, wurde unter kritischer Berücksichtigung der Tatsache, daß jedes Tier eine individuelle Charakteristik aufweist, der Versuch unternommen, auch für die beiden anderen Versuche mit intraperitonealer Applikation "Mittelwertkurven" zu erstellen.
Dazu wurden die errechneten Parameter der Tiere 27 bis 33 (0.16 ml Ery.-Sed./100 g KG i.p.; Kurve 1 in Abb. 22) sowie der Tiere 37, 40, 41 (0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG i.p.; Kurve 2 in Abb. 22) gemittelt und die so gewonnenen Kurven zusammen mit der "Mittelwertkurve" von Versuch 10 (Kurve 3 in Abb. 22) in einer Graphik zusammengestellt.
Die Proportionalität von Dosis und SBC-Anstieg wird deutlich.

Von den übrigen Versuchsreihen mit subkutaner und intramuskulärer Applikationsweise werden wegen der oben dargelegten Schwierigkeiten nur einzelne, repräsentative Konzentrations-Zeit-Verläufe graphisch dargestellt.

Versuchstier	a	k_o	k_1	k_2	k_3	k_4	c*
1	11.6	0.058	0.049	0.0298	0.19	9.0	6.00
3	7.6	0.052	0.045	0.0293	0.10	4.0	6.10
6	23.0	0.037	0.030	0.0541	0.44	2.0	3.30
8	25.2	0.046	0.034	0.0638	0.40	2.8	2.80
12	38.5	0.032	0.031	0.0364	0.40	3.0	4.90
15	36.6	0.026	0.024	0.0446	0.42	2.4	4.00
18	11.1	0.049	0.046	0.0305	0.18	6.0	5.85
19	9.2	0.061	0.052	0.0325	0.18	4.8	5.50
21	25.6	0.079	0.030	0.0420	0.17	2.0	4.25
23	22.8	0.053	0.025	0.0343	0.21	1.9	5.20

Tab. 15 errechnete Parameter zu den Konzentrations-Zeit-Verläufen in den Abbildungen 23 bis 32
(v ist immer 0.1785)



	1	2	3
D[1]	0,0409	0,0755	0,1376
a	8,8	16,5	25,4
K_0	1,51	0,75	0,42
K_1	0,095	0,077	0,081
K_2	0,0313	0,0355	0,0373
K_3	0	0	0
K_4	0	0	0
V	0,1785	0,1785	0,1785
C*	5,45	5,0	4,8
n	7	3	5

Abb. 22 Erläuterung siehe Text (S. 76)

1) D = mittlere applizierte Dosis Hämoglobin (g/100 g KG)

zu den übrigen Abkürzungen siehe S. 67

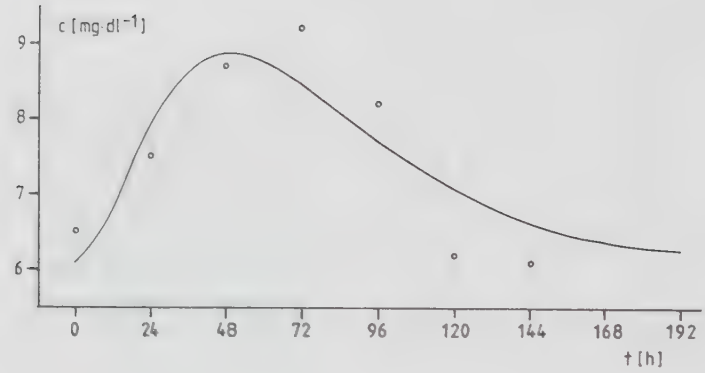


Abb. 23 Änderung der SBC nach subkutaner Applikation von 0.16 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 1 Tier 3)

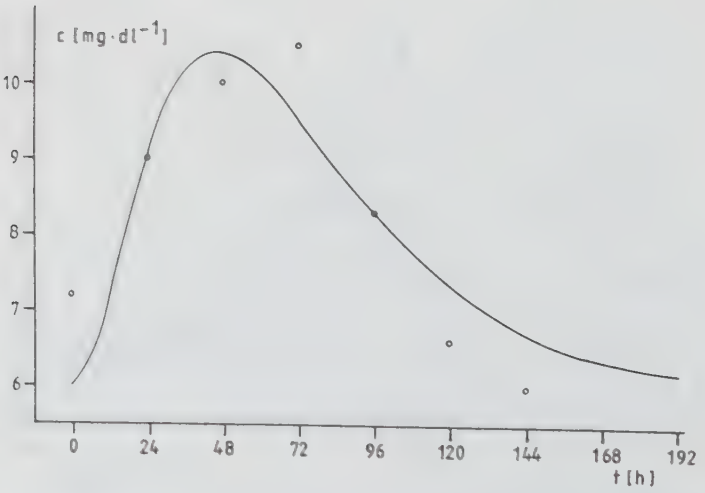


Abb. 24 Änderung der SBC nach subkutaner Applikation von o.16 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 1 Tier 1)

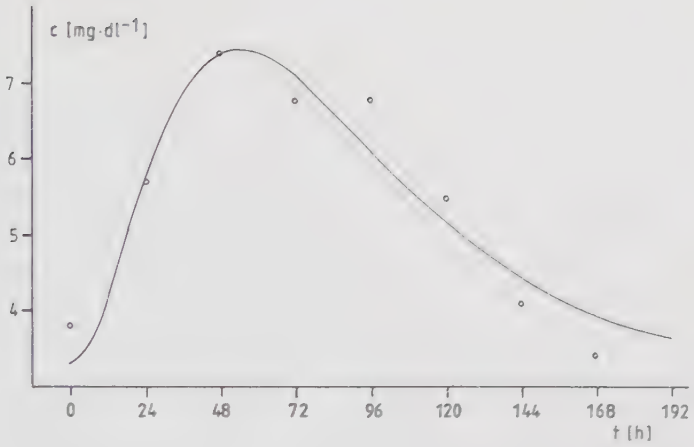


Abb. 25 Änderung der SBC nach subkutaner Applikation von 0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 2 Tier 6)

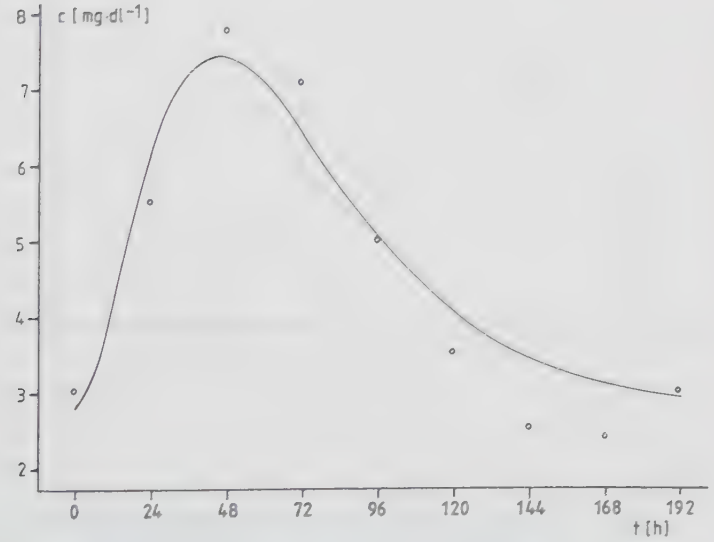


Abb. 26 Änderung der SBC nach subkutaner Applikation von 0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 2 Tier 8)

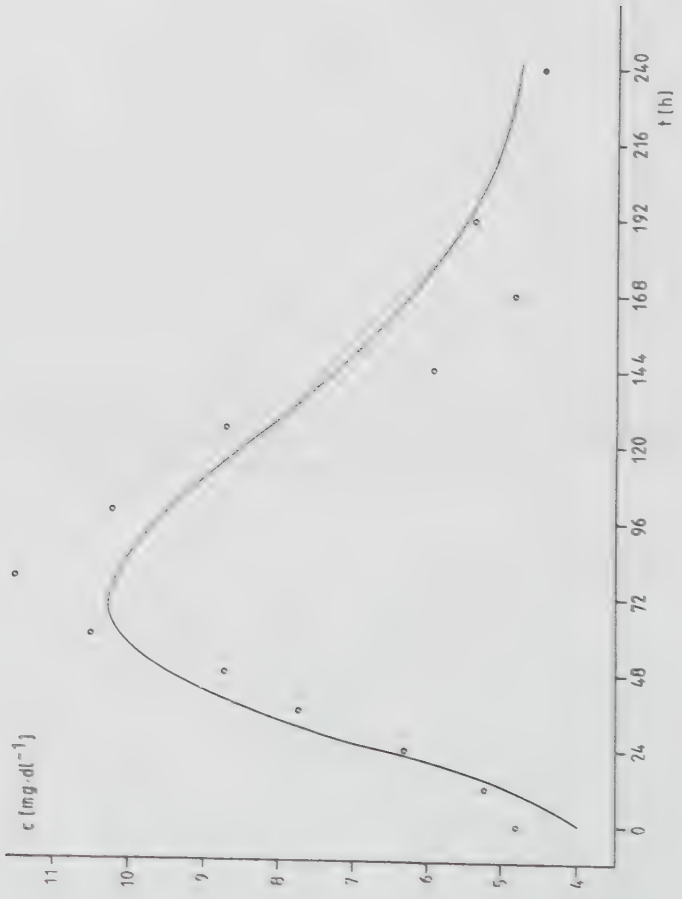


Abb. 27 Änderung der SBC nach subkutaner Applikation von 3,0 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 3 Tier 15)

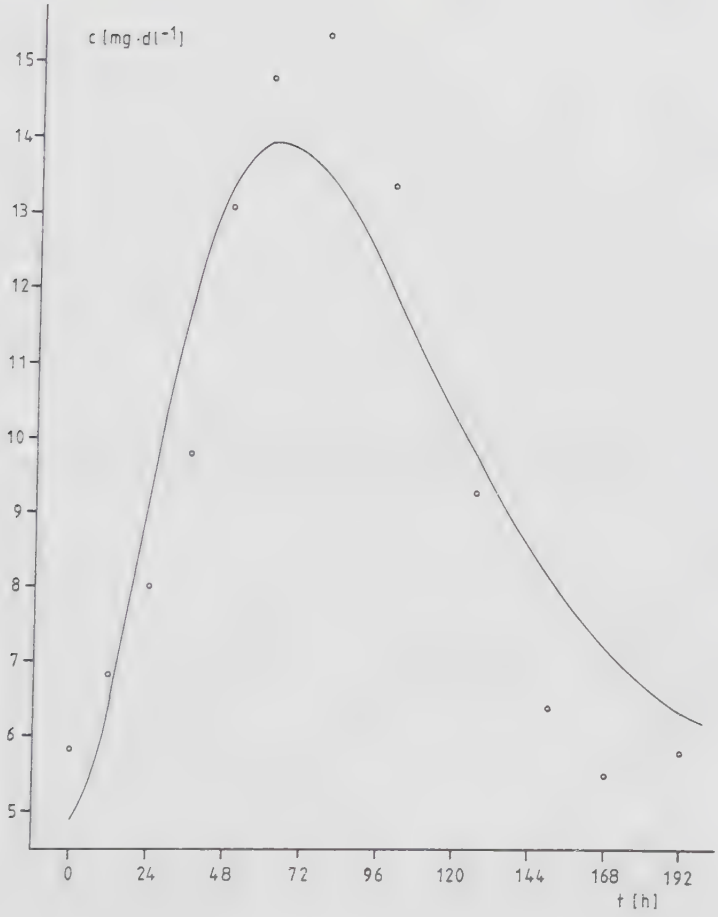


Abb. 28 Änderung der SBC nach subkutaner Applikation von 0.64 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 3 Tier 12)

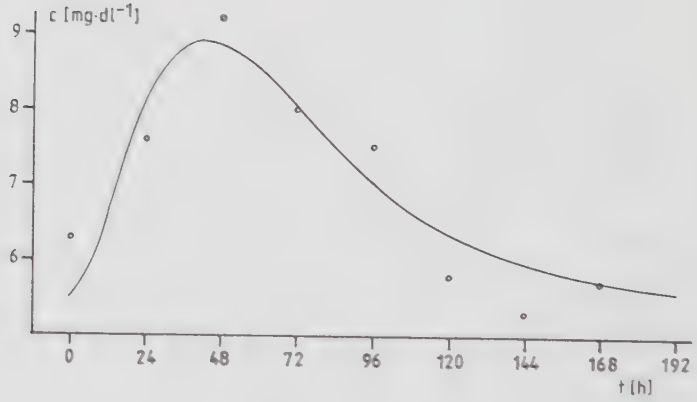


Abb. 29 Änderung der SBC nach intramuskulärer Applikation von 0.16 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 4 Tier 19)

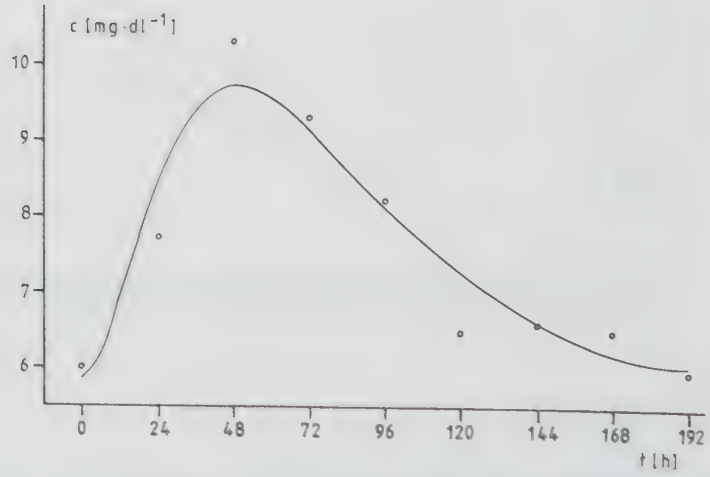


Abb. 30 Änderung der SBC nach intramuskulärer Applikation von 0.16 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 4 Tier 18)

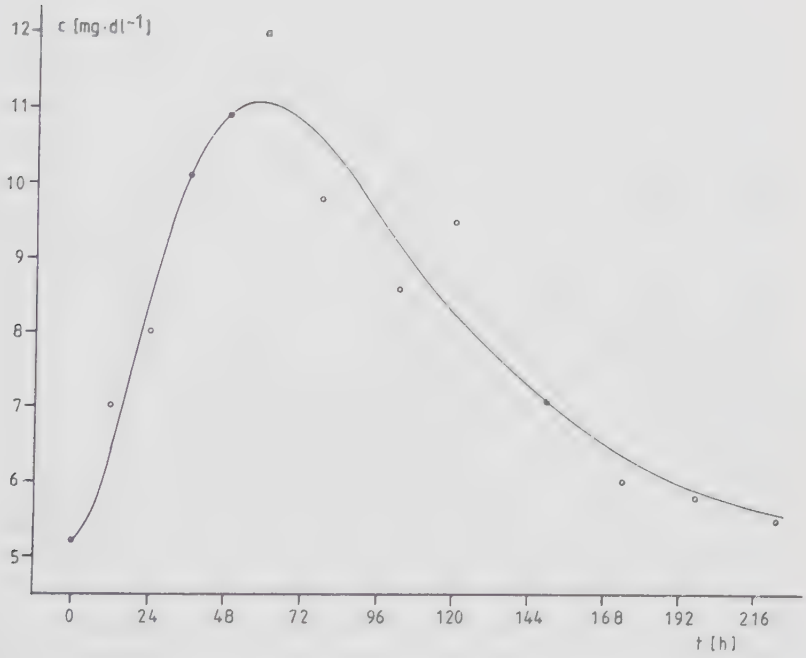


Abb. 31 Änderung der SBC nach intramuskulärer Applikation von 0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 5 Tier 23)

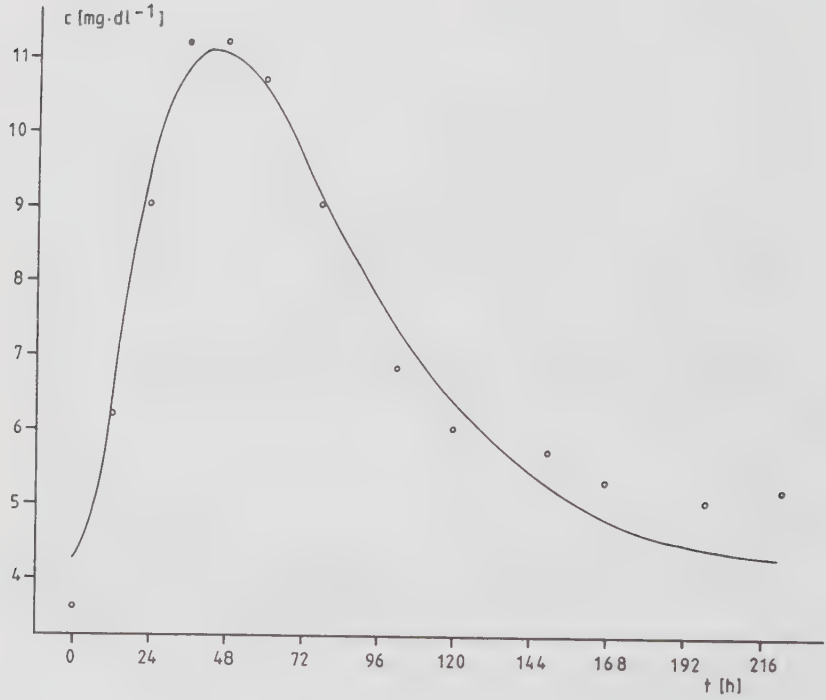


Abb. 32 Änderung der SBC nach intramuskulärer Applikation von 0.32 ml Ery.-Sed./100 g KG (Versuch 5 Tier 21)

5. DISKUSSION

5.1 Diskussion der Ergebnisse

Alle Kurven der Versuche mit intraperitonealer Applikationsweise konnten mit dem pharmakokinetischen Modell V gut angepaßt werden, d.h. die Charakteristik einer durch die Meßdaten gelegten Kurve wurde durch die theoretische Kurve gut wiedergegeben.

Bei den Kurven der Versuche mit subkutaner und intramuskulärer Applikationsweise gelang die Anpassung nicht in allen Fällen befriedigend.
Gemeinsame Kennzeichen aller nur unzulänglich beschreibbaren Meßkurven sind ein anfänglich verzögerter und sich dann beschleunigender Anstieg der SBC (im Gegensatz zur einfachen Bateman-Funktion, deren Kurven stets einen sich allmählich verlangsamenden Anstieg zeigen; s. Abb. 16), ferner ein sehr spät liegendes Maximum und ein im Vergleich zum Anstieg relativ steiler Abfall. Hierunter fallen vor allem einige Kurven nach subkutaner Injektion, z.B. die der Tiere 1 und 3 (s. Abb. 5), der Tiere 9 und 10 (s. Abb. 6) sowie der Tiere 11, 12 und 15 (s. Abb. 7).
Während bei einem steilen Anstieg der Meßkurve ein Austausch mit dem Gewebe zu vernachlässigen ist, wird die Verzögerung in der Anfangsphase der Kurve durch Berücksichtigung des extravasalen Kompartiments und damit Einführung von k_3 und k_4 beschreibbar.
Damit die errechneten Kurven ihren Maximalwert spät (in den oben genannten Beispielen etwa bei t = 72 Stunden) erreichen, müssen k_o und k_1 klein gewählt werden. Je kleiner k_o und k_1 sind, desto später liegen die Maxima und desto flacher verlaufen die Kurven. Um nun die errechneten SBC-Werte in ihrer Höhe den gemessenen anzupassen, ist ein sehr großes a einzusetzen.
Je schneller der Abfall der SBC erfolgt, desto tiefer muß c* gewählt werden, damit die Meßdaten auch in der späten Phase gut beschrieben werden. Das ist auch verständlich bei Vergegen-

wärtigung des Zusammenhanges zwischen Elimination und steady state, insofern Tiere, die schnell eliminieren können, auch eine niedrige Gleichgewichtskonzentration aufweisen.
k_3 und k_4 bewirken eine Verzögerung des SBC-Abfalls und damit bei diesen Kurven eine Verschlechterung der Anpassung.
Bei Tieren, die sich nicht, wie gefordert, im steady state befanden - dies betraf vor allem Gruppe 1 (0.16 ml Ery.-Sed./100 g KG subkutan) - muß ein sich während der Versuchszeit ständig vergrößerndes k_2 angenommen werden, so daß diese Versuchsgruppe nur mit Vorbehalt betrachtet werden darf, obwohl die berechneten Parameter weitgehend mit denen der Versuchsgruppe 4 (0.16 ml Ery.-Sed./100 g KG intramuskulär) übereinstimmen.
Um zu vernünftigen Werten zu gelangen, mußte bei der Gruppe 1 - auf Kosten der Genauigkeit im Anfangsteil der Kurve - ein deutlich unter dem Leerwert liegendes c* in die Rechnung eingesetzt werden (vergl. Abb. 24).

Dagegen lassen sich Kurven, deren Maxima nicht später als 48 bis 60 Stunden nach der Blutinjektion liegen und deren Abfall im Vergleich zum Anstieg weniger steil ist, recht gut anpassen. In diese Kategorie fallen die meisten Kurven nach intramuskulärer Applikationsweise (s. dazu z.B. Abb. 30, 31 und 32).

Außer den oben genannten Gründen ist zu beachten, daß im Verhältnis zu der Anzahl der Meßpunkte die Anzahl der Variablen in Modell V sehr groß ist und die Menge der Permutationen an der Grenze dessen liegt, was noch mit einem Taschenrechner zu bewältigen ist.

Im folgenden wird auf die einzelnen berechneten Parameter eingegangen.

'a' beschreibt das während des Versuchszeitraumes durch den Organismus geflossene zusätzliche Bilirubin. Es kann aus der Dosis D bei bekanntem Verteilungsvolumen für Bilirubin V_{bili} rechnerisch ermittelt werden und soll zur Unterscheidung vom durch das least squares Programm bestimmten a* heißen:

$$a^* = \frac{D \cdot 100}{V_{bili}}$$

Bei V_{bili} handelt es sich um eine fiktive Rechengröße, da davon ausgegangen wird, daß das Bilirubin sowohl im intravasalen als auch im extravasalen Raum in gleicher Weise gebunden wird und in der gleichen Konzentration vorliegt (88).
V_{bili} wurde in früheren Versuchen experimentell ermittelt, indem der Bilirubinspiegel durch zusätzliche Gabe einer definierten Menge Bilirubins angehoben wurde (7). WIESE berechnete aufgrund dieser Daten einen intravasalen Anteil des Bilirubins von 33 % unter Ansetzung eines pharmakokinetisch bestimmten Blutvolumens von 12.2 % des Körpergewichtes (88). Andere Versuche mit radioaktiv markiertem Bilirubin führten zu dem Ergebnis, daß sich 1/6 des Pools intravasal befänden (Blutvolumen = 5 % d. KG)(75). Sicherlich haben das Alter und davon abhängig das Körpergewicht mit einem unterschiedlichen prozentualen Anteil von Blutvolumen und Fettgewebe einen Einfluß auf V_{bili}, so daß hier nur grobe Orientierungswerte für ein rechnerisch ermitteltes a* angegeben werden können. Unter Berücksichtigung eines in der Literatur angegebenen mittleren Blutvolumens (s.S. 54) und eines experimentell ermittelten Hämatokrits (s.S. 57) wurde von einem V_{bili} von 18.5 % des Körpergewichtes ausgegangen.
Mit dem rechnerisch ermittelten a* stimmt das durch das least squares Programm bestimmte a bei den Versuchen 6 bis 10 mit intraperitonealer Applikationsweise innerhalb der zu erwartenden Meßgenauigkeit weitgehend überein (s. Tab. 16). Daher kann für diese Versuchsreihen behauptet werden, daß das gesamte Hämoglobin, das dem Organismus durch die Blutinjektion zusätzlich zugeführt wurde, diesen als Bilirubin belastet hat und daß das Rechenmodell tatsächlich den gesamten Übergang von Hämoglobin in Bilirubin erfaßt.
Diskrepanzen zwischen a und a* sind außer auf nicht zu vermeidende Ungenauigkeiten beim Abmessen so kleiner Blutmengen und Schwankungen des Hämoglobingehaltes der einzelnen Ery.-Sed.-Dosen auch auf das im individuellen Fall nicht bestimmbare V_{bili} zurückzuführen.
Bei subkutaner und intramuskulärer Applikationsweise ist die Beurteilung von a wegen der oben genannten Schwierigkeiten mit der Anpassung der Kurven problematischer (s. S. 85) Während

Versuch	Hb-Gehalt des gespritzten Ery.-Sed. (g/100 g KG)	Dosis Bilirubin (mg/100 g KG)	a*	a
1	0.0448	1.568	8.7	8.4 + (6.5 - 11.6)
2	0.0832	2.912	16.2	25.8 + (23.0 - 29.8)
3	0.1376	4.816	26.8	36.3 + (30.4 - 39.8)
4	0.0448	1.568	8.7	9.0 (4.7 - 13.2)
5	0.0889	3.114	17.3	25.7 + (22.8 - 27.8)
6	0.0448	1.568	8.7	9.1 (5.3 - 11.7)
7	0.0344	1.204	6.7	7.1 (6.4 - 7.6)
8	0.0889	3.114	17.3	16.4 (14.8 - 18.5)
9	0.0688	2.408	13.4	15.5 (14.5 - 16.5)
10	0.1376	4.816	26.8	25.4 (23.0 - 28.0)

Tab. 16 Berechnung der Bilirubin-Dosis beim Abbau der Hämatome unter der Voraussetzung, daß das gesamte in den Erythrozyten enthaltene Hämoglobin zu Bilirubin umgewandelt wird und daß aus 1 g Hämoglobin 35 mg Bilirubin entstehen
zu a* und a siehe Text
+ Mittelwert von jeweils vier Tieren

für kleine Dosen auch hier a und a* gut übereinstimmen, ist dies bei großen Dosen nicht der Fall. Ob bei den Tieren, die ein unverhältnismäßig großes a zeigen, durch Verletzung von Gefäßen evt. ein zusätzliches "echtes" Hämatom gesetzt wurde, ist eine zu diskutierende Möglichkeit.

'k_o' und 'k_1', die Geschwindigkeitskonstanten für die Bereitstellung von Enzym und die Transformation des Hämoglobins in Bilirubin sowie die Invasion des Bilirubins in den Intravasalraum, sollen hier zusammen betrachtet werden.
Wie die Berechnungen zeigen, ist die Größe von k_o und k_1 vom Applikationsort abhängig, was auf einen Einfluß der Art des Gewebes auf die Geschwindigkeit der Freisetzung des Hämoglo-

bins aus den Erythrozyten und dessen Umwandlung in Bilirubin hindeutet.

k_o ist bei den Versuchen mit intraperitonealer Applikationsweise durchschnittlich 10 bis 20 mal größer als bei den Versuchen mit subkutaner bzw. intramuskulärer Applikation. Während sich das Blut (das in den Versuchen ungerinnbar war) in der Bauchhöhle ungehindert ausbreiten kann und Kontakt mit einer großen Resorptions- bzw. Austauschfläche mit enzymtragenden Leukozyten hat, müssen im Muskel- bzw. Bindegewebe die zum Abräumen des Hämatoms nötigen Makrophagen erst in ausreichender Menge zum Ort des Geschehens hinwandern.

Auch eine geringe Dosisabhängigkeit von k_o ist zu beobachten: Bei den Versuchen mit intraperitonealer Injektion wird k_o mit Vergrößerung der Blutmenge kleiner. Es ist anzunehmen, daß auch hier die Makrophagen nicht unbegrenzt zur Verfügung stehen. Bei den Versuchen mit subkutaner Applikation scheint dieselbe Dosisabhängigkeit zu bestehen. Hierbei ist zu bedenken, daß ein Hämatom von seinem Rand her abgebaut wird (11), so daß der Durchmesser einen Einfluß auf die Geschwindigkeit des Hämatomabbaus haben könnte.

k_1 ist ebenfalls vom Applikationsort abhängig und bei den Versuchen mit subkutaner und intramuskulärer Gabe auch von der Dosis.

Aus k_1 läßt sich die Halbwertszeit der Umwandlung von Hämoglobin in Bilirubin abschätzen:

$$t_{50} = \frac{\ln 2}{k_1}$$

Bei s.c.- und i.m.-Injektion einer kleinen Blutmenge liegt t_{50} zwischen 13 und 21 Stunden, d.h. ein kleines Hämatom wird binnen drei bis fünfeinhalb Tagen abgebaut (in der Annahme, daß ca. 6 Halbwertszeiten der völligen Eliminierung entsprechen). Bei größerer Blutmenge ist t_{50} mit 17 bis 29 Stunden etwas länger, so daß ein großes Hämatom binnen vier bis sieben Tagen abgebaut wird. Dabei ist zu beachten, daß der Hämatomabbau bei der Ratte schneller als beim Menschen abläuft (11).

Als Ursache der Dosisabhängigkeit ist ein Sättigungseffekt zu diskutieren: Bei Erhöhung des Substratangebotes kann die enzyma-

tische Umwandlung nicht mehr Schritt halten (obwohl bei intravenöser Hämoglobingabe die Bilirubin-Umwandlungskapazität der Leber fünfzigmal größer als der physiologische Hb-Umsatz ist und keine Sättigung eintritt (61)).
Bei intraperitonealer Gabe einer kleinen Blutmenge schwanken die Werte für k_1 erheblich. Eine eindeutige Dosisabhängigkeit ist aus den Werten nicht herzuleiten. k_1 ist durchschnittlich doppelt bis dreimal so groß wie bei den oben besprochenen Versuchen, und es resultiert für den Hämoglobinabbau eine mittlere Halbwertszeit zwischen 8.5 und 9 Stunden, d.h. die Blutung wird innerhalb von zwei bis drei Tagen abgeräumt. Da bei kleiner applizierter Blutmenge in Einzelfällen auch extrem kurze Halbwertszeiten von etwa vier Stunden (Tier 29, 33, 35, 36) berechnet wurden, ist zu diskutieren, ob es nicht auch teilweise zu einer Absorbtion ganzer Erythrozyten und deren Zerstörung in der Leber kam.
Die Geschwindigkeit, mit der ein Hämatom abgeräumt wird, hängt ferner vom Grad der Vaskularisation des betroffenen Gewebes ab. So ist verständlich, daß bei den Versuchen mit intraperitonealer Gabe das gebildete Bilirubin über die große Resorptionsfläche des Peritoneums schnell in den Blutkreislauf gelangt und von dort endgültig eliminiert wird. Dagegen erfolgt dieser Vorgang z.B. im subkutanen Bindegewebe nicht so schnell, zumal die mit Erythrozytenfragmenten und Pigment beladenen Makrophagen zum Teil noch in der Umgebung des Hämatoms liegen bleiben können.

'k_3' und 'k_4' beschreiben den reversiblen Austausch des Bilirubins mit dem Extravasalraum.
Die Werte für k_3 liegen zwischen 0.10 und 0.50 h^{-1}, was bedeutet, daß sich in einem Zeitraum von zwei bis zehn Stunden ein Konzentrationsausgleich mit dem Gewebe herstellt. Diese Ergebnisse entsprechen in etwa den in der Literatur angegebenen Zeiten von 7 bis 10 Stunden (75) bzw. 6 bis 12 Stunden (KAPOOR zit. in 7) für die Äquilibrierung von radioaktiv markiertem Bilirubin mit dem Extravasalraum.
k_4 ist stets um ein mehrfaches größer als k_3.
Die Berechnung der Werte für k_3 und k_4 ist bei den Tieren pro-

blematisch, die sich noch nicht im steady state befanden und daher einen steilen SBC-Abfall zeigten (Tier 1 und 3).

Bei allen Versuchen mit intraperitonealer Applikationsweise verliert der Austausch mit dem Extravasalraum aufgrund der großen Geschwindigkeit der Konzentrationsänderungen an Bedeutung, und k_3 und k_4 sind daher gleich Null zu setzen (in diesem Fall entspricht das pharmakokinetische Modell V dem Modell III).

'k_2' beschreibt die endgültige Elimination des Bilirubins aus dem Organismus. Es sollte von der applizierten Blutmenge und dem Applikationsort unabhängig und daher für alle Versuche gleich sein, insofern eine der Versuchsvoraussetzungen war, daß sowohl das endogen gebildete wie das von außen zugeführte Bilirubin durch dieselben alternativen Abbaumechanismen eliminiert wird.
k_2 ist bei allen Versuchen gleich - ausgenommen Versuch 2, in dem k_2 größer ist, was sich im durchschnittlich niedrigeren steady state der Tiere vor Versuchsbeginn ausdrückt. Diese Tiere, die das endogen gebildete Bilirubin auf einem niedrigen Level konstant halten können, eliminieren auch das zusätzlich angebotene besser. Daher kommt es bei den Ratten mit großem k_2 auch zu keinem so hohen SBC-Anstieg wie bei Ratten mit kleinem k_2 trotz gleicher Dosierung, da bei den ersteren schon während der Invasion eine stärkere Elimination einsetzt (Beispiele dazu finden sich in Abschnitt 4.2).

'c*' stellt die Gleichgewichtskonzentration zwischen Bilirubinbildung und Bilirubinelimination dar:

$$c^* = \frac{V}{k_2}$$

c* bleibt von den Versuchen unbeeinflußt. Nach Elimination des zusätzlich angebotenen Bilirubins kehrten die Tiere zu ihrem steady state vor Versuchsbeginn zurück, mit Ausnahme derjenigen Tiere, deren steady state wegen des zu geringen Alters noch nicht die Erwachsenenwerte erreicht hatte. Bei ihnen fiel die SBC nach Versuchsende weiter ab.

'v' ist die körpereigene Bildungsgeschwindigkeit von Bilirubin und entspricht der Zerfallsgeschwindigkeit des Hämoglobins, da es zu 85 bis 90 % aus Hämoglobin gebildet wird.
Um mit Hilfe der Erythrozytenlebenszeit v zu bestimmen, wurden bei den im Versuch befindlichen und auch bei anderen homo- und heterozygoten Gunn-Ratten die Retikulozytenzahlen ermittelt.
Die Verwertung dieser Daten ist dadurch erschwert, daß die Tiere in einem Alter von ein bis zwei Monaten noch keine konstanten Blutbilder aufweisen. Bei heranwachsenden Tieren nimmt das relative Blutvolumen mit steigendem Gewicht ab (9). Das Verhältnis von Plasma zu festen Blutbestandteilen verschiebt sich zu deren Gunsten, d.h. der Hämatokrit steigt mit dem Alter und ebenso die absoluten Erythrozytenzahlen bei Sinken des Anteils der retikulierten Zellen.
Daher wurde der von WIESE errechnete Wert $v = 0.1785$ $(mg.dl^{-1})^{-1}.h^{-1}$ übernommen (88).
Auch dieser nicht genau bestimmbare Parameter bringt eine gewisse Unsicherheit in die Rechnung.

5.2 Klinische Relevanz der Ergebnisse

Bei der Übertragung der Ergebnisse der Tierversuche auf die Verhältnisse beim menschlichen Neugeborenen sind folgende Unterschiede zu berücksichtigen:
Zum einen wurde nicht mit homologen Blut gearbeitet. (Allerdings hatten die Vorversuche mit homo- und heterologem Blut zu den gleichen Ergebnissen geführt.)
Zum anderen ist das Konservenblut durch Stabilisatorzusätze ungerinnbar, so daß sich kein kompaktes Blutdepot bildet.
Ferner erfolgt die Resorption von Hämatomen bei Tieren, insbesondere bei Ratten, schneller als beim (erwachsenen) Menschen; über die Verhältnisse beim Neugeborenen ist nicht viel bekannt.
Schließlich - und dies ist der Hauptunterschied - wurden die Versuche an Tieren durchgeführt, die sich bezüglich ihrer SBC in einem steady state befanden, so daß die SBC nach Elimination des zusätzlich zugeführten Bilirubins wieder die Ausgangswerte erreichte. Dagegen nimmt beim Neugeborenen die SBC nach der

Geburt anfänglich zu , erreicht ein Maximum am 3. Tag und fällt dann mit zunehmender Ausreifung des Bilirubin eliminierenden Transport- und Enzymsystems wieder ab, um schließlich die normalen Erwachsenenwerte unter 1 $mg.dl^{-1}$ anzunehmen.

Unter Berücksichtigung der Besonderheiten im Tiermodell können folgende Ergebnisse auf das Neugeborene übertragen werden:

- Das gesamte in einer Blutung enthaltene Hämoglobin belastet nach dessen Abbau den Organismus zusätzlich als Bilirubin.
- Der Anstieg der SBC ist abhängig vom Umfang der Blutung bzw. der Größe des Hämatoms.
- Die Geschwindigkeit des SBC-Anstieges und damit die Höhe des Maximums sind abhängig vom Gewebe, in dem die Blutung lokalisiert ist.
- Die Höhe des SBC-Anstieges ist entscheidend von der Eliminationsfähigkeit des Organismus für Bilirubin abhängig, d.h. beim Neugeborenen von der Geschwindigkeit der Enzym-Ausreifung.

Ob also die Resorption einer Blutung tatsächlich auch zu einer Hyperbilirubinämie führt, ist durch das Zusammenwirken der oben genannten Faktoren bedingt: So ist eine Blutung beim Frühgeborenen anders zu beurteilen als beim Reifgeborenen; eine kleinere Weichteilblutung anders als ein ausgedehntes subperiostales Kephalhämatom.

Da eine Blutung in parenchymatöse Organe (z.B. Nebenniere, Niere) oder ins Bindegewebe (z.B. subaponeurotische Kephalhämatome, subkutane Suffusionen) schnell abgebaut wird -wie auch aus den referierten Kasuistiken hervorgeht-, fällt die vermehrte Bilirubinproduktion in eine Zeit, in der die Leber noch nicht ausreichend zur Glukuronidierung imstande ist, mit der Folge, daß es zu einer Hyperbilirubinämie kommt. Diese wird sich mit zunehmender Ausreifung des bilirubineliminierenden Systems abschwächen.

Völlig anders sind dagegen die Verhältnisse bei abgekapselten Hämatomen (wichtigstes Beispiel ist das häufig auftretende subperiostale Kephalhämatom, ferner subkapsuläre Leberhämatome, Thymushämatome), aus denen unter Umständen noch nach Wochen Blut aspiriert werden kann. Hier erfolgt die Resorption so

langsam, daß das bilirubineliminierende System längst ausgereift ist, bevor eine nennenswerte Bilirubinproduktion aus dem Hämatomabbau stattfindet, so daß der Organismus den vermehrten Anfall leicht ausscheiden kann. Abhängig vom Ausmaß der Blutung stehen hier klinische Symptome wie Anämie und Blutungsschock im Vordergrund.

Da Blutungen ein häufiges Ereignis in der Neugeborenenperiode darstellen, ist es für die klinische Praxis von Bedeutung, diese im Hinblick auf die Größe sowie die Lokalisation und Resorbierbarkeit zu differenzieren und im therapeutischen Konzept zu berücksichtigen, d.h. prophylaktische Maßnahmen gegen eine Hyperbilirubinämie zu ergreifen (Ausschaltung der Blutungsquelle, falls erforderlich; Enzyminduktion durch Phenobarbital; Beschleunigung der Darmpassage; Albumingabe) bzw. diese rechtzeitig zu behandeln (Phototherapie; Austauschtransfusionen).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Jede über das normale Maß des physiologischen Icterus neonatorum simplex hinausgehende Hyperbilirubinämie bedarf wegen der fatalen Folgen eines möglichen Kernikterus einer gründlichen Diagnostik der zugrundeliegenden Störung.

Eine der Ursachen der Hyperbilirubinämie kann eine geburtstraumatisch bedingte Blutung sein.

Zur Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Hämatom und Serum-Bilirubin-Konzentration wurden jungen Gunn-Ratten unterschiedlich große Blutmengen in verschiedene Gewebe - subkutanes Bindegewebe und Muskulatur - sowie in die Bauchhöhle gespritzt. Da Gunn-Ratten aufgrund eines hereditären Enzymmangels nicht zur Glukuronidierung des Bilirubins in der Lage sind, andererseits das Hämoglobin aber normal abbauen, kommt es infolge des erhöhten Substratangebotes vorübergehend zu einem deutlichen SBC-Anstieg, der bis zur Normalisierung verfolgt wurde.

Die Gunn-Ratten verhalten sich nach Applikation einer bestimmten Blutmenge gleichartig, d.h. das gleiche Hämoglobinangebot führt bei gleicher Applikationsart zu einer gleichen Erhöhung der SBC.
Bei gleicher Applikationsart, aber unterschiedlicher Dosierung korrespondiert die Höhe des SBC-Maximums mit der applizierten Blutmenge.
Der Zeitpunkt des Maximums ist bei verschiedener Dosierung gleich, unterscheidet sich aber deutlich bei unterschiedlicher Applikationsweise.
Die gesamte rechnerische Menge an Bilirubin, die durch die Blutinjektion inkorporiert wird, belastet den Organismus zusätzlich zur normalen Bilirubinkonzentration.
Die Zeit der größten Bilirubinanflutung liegt in den ersten drei Tagen zwischen Blutinjektion und Bilirubin-Peak.

Es wurde ein pharmakokinetisches Modell entwickelt, mit dem die experimentell gewonnenen Daten ausgewertet wurden. Es besteht aus dem Blutdepot, dem Intravasalraum, dem Extravasalraum und einem endgültigen Ausgang, und es geht davon aus, daß wegen

des langsamen Einstroms der enzymtragenden Makrophagen in das Blutdepot die Geschwindigkeit der Freisetzung des Hämoglobins aus den Erythrozyten und die Umwandlung des roten Blutfarbstoffes in Bilirubin allmählich zunimmt, ein Maximum erreicht und infolge des Substratverlustes wieder abnimmt. Gleichzeitig steigt im Serum die Bilirubinkonzentration an, und es beginnt auch schon die endgültige Elimination aus dem Organismus. Ein Austausch mit dem Extavasalraum ist möglich.
Der Vergleich dieser Daten mit der Ausreifung des bilirubineliminierenden Enzymsystems ermöglicht Einsichten in die Bedeutung von postpartalen Blutungen und Hämatomen in der Neugeborenenzeit.

Da beim Neugeborenen die Ausreifung des bilirubineliminierenden Enzymsystems durchschnittlich eine Woche in Anspruch nimmt, muß jede Blutung, deren Resorption schneller erfolgt - das betrifft in erster Linie Weichteilblutungen - zu einer Erhöhung der SBC mit der möglichen Folge einer Hyperbilirubinämie führen. Dagegen wird bei subperiostalen oder subkapsulären Hämatomen, die aus technischen Gründen hier nicht untersucht wurden, das Hämoglobin so langsam zu Bilirubin transformiert, daß das Enzymsystem bereits vorher ausgereift ist, die Kapazität zur Elimination des zusätzlich anfallenden Bilirubins also ausreicht und keine Hyperbilirubinämie entsteht.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AHUJA,G.L., WILLOUGHBY,M.L.N., KERR,M.M., HUTCHISON,J.H.
Massive Subaponeurotic Haemorrhage in Infants born by Vacuum Extraction.
Br. Med. J. 3 (1969) 743-745

2. ARAD,I., FAINMESSER,P., BIRKENFELD,A., GULAIEV,B., SADOVSKY,E.
Vacuum extraction and neonatal jaundice.
J. Perinat. Med. 10 (1982) 273-278

3. ARIAS,I.M.
Inheritable and Congenital Hyperbilirubinemia. Models for the Study of Drug Metabolism.
New Engl. J. Med. 285 (1971) 1416-1421

4. ARIAS,I.M.
Recent Advances in the Metabolism of Bilirubin and Their Clinical Implications.
Med. Clin. N. Amer. 44 (1960) 607-621

5. ARIAS,I.M., JOHNSON,L., WOLFSON,S.
Studies of extrahepatic glucuronide formation in normal and Gunn's rats. (abstr.)
Clin. Res. 8 (1960) 28

6. BALLOWITZ,L.
Hyperbilirubinämie bei Neu- und Frühgeborenen.
pädiat. prax. 13 (1973/74) 213-230

7. BALLOWITZ,L., GEUTLER,G., GOEBEL,A., KROCHMANN,J.
Dose-Response Relationships in Phototherapy.
Stern's Intensive Care in the Newborn II, 1978

8. BEGEMANN,H. (Hrsg.)
Klinische Hämatologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1970

9. BELCHER,E.H., HARRIS,E.B.
Studies of plasma volume, red cell volume and total blood volume in young growing rats.
J. Physiol. 139 (1957) 64-78

10. BERG,S.
Die Altersbestimmung von Hautverletzungen.
Z. Rechtsmedizin 70 (1972) 121-135

11. BERG,S., EBEL,R.
Altersbestimmung subkutaner Blutungen.
Münchener med. Wschr. 111 (1969) 1185-1190

12. BERNISCHKE,K., GARNER,F.M., JONES,T.C.
Pathology of Laboratory Animals.
Springer-Verlag New York, Heidelberg, Berlin 1978

13. BETKE,K., RIEGEL,K.
Das Neugeborene und seine Krankheiten.
In: WISKOTT,A., BETKE,K.,KÜNZER,W. (Hrsg.)
Lehrbuch der Kinderheilkunde.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1977

14. BILING,B.H., COLE,P.G., LATHE,G.H.
Increased plasma bilirubin in newborn infants in relation to birth weight.
Brit. Med. J. 2 (1954) 1263-1265

15. BRODERSEN,R., HERMANN,L.S.
Intestinal reabsorption of unconjugated bilirubin. A possible contributing factor in neonatal jaundice.
Lancet 1 (1963) 1242

16. BROWN,A.K.
Neonatal Jaundice.
Pediat. Clin. N. Amer. 9 (1962) 575-603

17. BUDDECKE,E.
Grundriß der Biochemie.
Walter de Gruyter Berlin New York 1974

18. CARBONE,J.V., GRODSKY,G.M.
Constitutional Nonhemolytic Hyperbilirubinemia in the Rat: Defect of Bilirubin Conjugation.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 94 (1957) 461-463

19. CLAUSEN,J.
On the fate of the red blood cells in intraperitoneal blood-transfusion.
Acta path. et microbiol. Scandinav. Supp 37 (1938) 134-137

20. CRESKOFF,A.J. et al.
Hematology of the Rat - Methods and Standards.
in: FARRIS,E.J., GRIFFITH,J.Q. (Hrsg.)
The Rat in Laboratory Investigation.
Hafner Publishing Company New York 1963

21. DAVIS,J.A., SCHIFF,D.
Bruising as a cause of neonatal jaundice.
Lancet 1 (1966) 636-638

22. DICKERMAN,J.D., TAMPAS,J.P.
Adrenal Hemorrhage in the Newborn - The Phenomenon of "Enclosed" Hemorrhage as a Cause of Neonatal Jaundice and Later Adrenal Calcifications.
Clin. Pediat. 16 (1977) 314-316

23. DÖHLER,K.D., WONG,C.C.,VON ZUR MÜHLEN,A.
The rat as modell for the study of drug effects on thyreoid function: consideration of methodological problems.
Pharmac. and Therap. 5 (1979) 305-318

24. DORTMANN,A., KÜSTER,F.
Hämatome als Ursache einer gefährlichen Hyperbilirubinämie bei Neugeborenen.
Kinderärztl. Praxis 30 (1962) 489-493

25. FARBER,S., VAWTER,G.F.
Clinical Pathological Conference.
J. Pediat. 56 (1960) 308-314

26. FISCHER,K.
Neugeborenenikterus und Blutgruppeninkompatibilität.
in: HARNACK,G.-A. v. (Hrsg.)
Kinderheilkunde.
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1984[6]

27. FONTAINE,G., WALBAUM,R., VIROT,G.
Céphalhématome et ictère néonatal.
Pédiatrie 19 (1964) 615-617

28. GÄRTNER,K., BÜTTNER,D., DÖHLER,D., et al.
Stress response of rats to handling and experimental procedures.
Laboratory Animals 14 (1980) 267-274

29. GILBERTSEN,A.S., BOSSENMAIER,I., CARDINAL ,R.
Enterohepatic circulation of unconjugated bilirubin in man.
Nature 196 (1962) 141-142

30. GLADKE,E., HATTINGBERG,H.M.v.
Pharmakokinetik
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1973

31. GUNN,C.H.
Hereditary Achyloric Jaundice in a New Mutant Strain of Rats.
J. Hered. 29 (1938) 137-139

32. HACKBARTH,H., BUROW,K., SCHIMANSKY,G.
Strain differences in inbred rats: influence of strain and diet on haematological traits.
Laboratory Animals 17 (1983) 7-12

33. HAGEMANN,E., SCHMIDT,G.
Ratte und Maus.
Walter de Gruyter Berlin 1960

34. HAMDY,M.K., KUNKLE,L.E., DEATHERAGE,F.E.
Bruised Tissue. II. Determination of the age of a bruise.
J. Anim. Sci. 16 (1957) 490-495

35. HANEFELD,F., NATZSCHKA,J.
Histochemical studies in infant Gunn rats with kernikterus.
Neuropäd. 2 (1971) 428-438

36. HERTL,M.
Pädiatrische Differentialdiagnose.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1977

37. HOFFBAUER,H., LÜBKE,F., MEYER,R.-D., KROH,G.
Beitrag zur intrauterinen Bluttransfusion bei fetaler Erythroblastose.
Zschr. Geburtsh. Gyn. 166 (1967) 211-222

38. HORST,R.L. van der
Exsanguinating Cephalhaematomata in African Newborn Infants.
Arch. Dis. Childh. 38 (1963) 280-285

39. IWASZKO-KRAWCZUK,W., DZIENIS,K., et al.
(Scalp hematoma and blood bilirubin levels in newborn infants.) poln. Abstr. engl.
Ginekol. Pol. 52 (1981) 165-169

40. JANSSEN,W.
Forensische Histologie.
Verlag Max Schmidt-Römhild, Lübeck 1977

41. JOHNSON,L., GARCIA,M.L., FIGUEROA,E., SARMIENTO,F.
Kernikterus in Rats Lacking Glucuronyl Transferase.
Amer. J. Dis. Child. 101 (1961) 322-349

42. JOHNSON,L., SARMIENTO,F., BLANC,W.A., DAY,E.
Kernicterus in Rats with an Inherited Defiency of Glucuronyl Transferase.
Amer. J. Dis. Child. 97 (1959) 591-608

43. KAGWA-NYANZI,J.A., ALPIDOUSKY,V.K.
Subaponeurotic Hemorrhage in Newborn Infants. An Analysis of Nine Instances in African Infants.
Clin. Pediatr. 11 (1972) 224-227

44. KENDALL,N.,WOLOSHIN,H.
Cephalhematoma associated with fracture of the skull.
J. Pediatr. 41 (1952) 125-132

45. KEUTH,U.
Die speziellen Lokalisationen des Schädeltraumas.
in: OPITZ,H., SCHMID,F. (Hrsg.)
Handbuch der Kinderheilkunde I/2
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1971

46. KLOOS,K., VOGEL,M.
Pathologie der Perinatalperiode.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1974

47. KOBYLETZKI,D.v.
Die Neugeborenen- und Säuglingsmorbidität an der geburtshilflichen Abteilung der Städt. Krankenanstalten Mannheim in den Jahren von 1956 bis 1965.
Geburtshilfe Frauenheilkd. 31 (1971) 309-314

48. KÜNZER,W.
Zur Problematik der perinatalen Blutungsübel.
Dtsch. med. Wschr. 91 (1966) 793-801

49. LEONARD,S., ANTHONY,B.
Giant Cephalhematoma of Newborn.
Amer. J. Dis. Child. 101 (1961) 170-173

50. LESTER,R., HAMMAKER,L., SCHMID,R.
A new therapeutic approach to unconjugated hyperbiliaemia.
Lancet 2 (1962) 1257

51. LESTER,R., SCHMID,R.
Intestinal absorption of bile pigments. I. The enterohepatic circulation of bilirubin in the rat.
J. Clin. Invest. 42 (1963) 736-746

52. LEVKOFF,A.H., WESTPHAL,M.C., FINKLEA,J.F.
Evaluation of a Direct Reading Sprectrophotometer for Neonatal Bilirubinometry.
Amer. J. Clin. Path. 54 (1970) 562-565

53. MALLOY,H.T., LOWENSTEIN,L.
Hereditary Jaundice in the Rat.
Canad. M. A. J. 42 (1940) 122-125

54. MARCHI,A.G., MEZZANO,A., MORI,P.G.
L'ittero grave neonatale da riassorbimento di ematomi.
Minerva Pediatr. 17 (1965) 1864-1870

55. MARTIUS,G.
Das Symptom des Ikterus in der Neugeborenenzeit.
Dtsch. med. Wschr. 82 (1957) 1422-1427

56. MARTIUS,G.
Lehrbuch der Geburtshilfe.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1974

57. MASSHOFF,W.
Der Blutabbau im Lichte der allgemeinen Pathologie.
Dtsch. med. Wschr. 71 (1946) 92-95

58. MICHAELIS,R., WEBER,M., BÖTZELEN,H.P.
Vakuumextraktion und Ikterus neonatorum.
Dtsch. med. Wschr. 93 (1968) 295-299

59. NELSON,TH.C.
The Relationship Between Melena and Hyperbilirubinemie in Mature Neonates.
Biol. Neonat. 8 (1965) 267-273

60. OSTROW,J.D.
Photocatabolism of Labeled Bilirubin in the Congenitally Jaundiced (Gunn) Rat.
J. Clin. Invest. 50 (1971) 707-718

61. OSTROW,J.D., JANDL,J.H., SCHMID,R.
The formation of bilirubin from hemoglobin in vivo.
J. Clin. Invest. 41 (1962) 1628-1637

62. PALITZSCH,D.
Systematik der praktischen Pädiatrie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1976[3]

63. PHIBBS,R.H.
Evaluation of the newborn.
in: RUDOLPH,A.M.
Pediatrics 16 th edition
Appleton-Century-Crofts / New York

64. POLAND,R.L., ODELL,G.B.
Physiologic Jaundice: The enterohepatic circulation of bilirubin.
New Engl. J. Med. 284 (1971) 1-6

65. PRITCHARD,J.A., WEISMAN,R.
The absorption of labeled erythrocytes from the peritoneal cavity of humans.
J. Lab. Clin. Med. 49 (1957) 756-761

66. PROD'HOM,L.S.
Die Erkrankungen des Foetus und des Neugeborenen.
in: FANCONI,G., WALLGREN,A. (Hrsg.)
Lehrbuch der Pädiatrie
Schwabe und Co Verlag Basel / Stuttgart 1972[9]

67. PSCHYREMBEL,W.
Praktische Geburtshilfe.
Walter de Gruyter und Co. Berlin 1967

68. RAUSEN,A.R., DIAMOND,L.K.
"Enclosed" Hemorrhage and Neonatal Jaundice.
Amer. J. Dis. Child. 101 (1961) 164-169

69. REMMELE,W., BRODERSEN, H.C.
Umfang und Wege der Resorption homologer Erythrocyten aus dem Bauchraum.
Z. ges. exper. Med. 141 (1966) 201-218

70. ROBINSON,S.H., BROWN,B.W., SCHMID,R.
The Sources of Bile Pigment in the Rat: Studies of the "Early Labeled" Fraction.
J. Clin. Invest. 45 (1966) 1569-1586

71. SCHELLONG,G.
Ikterus neonatorum.
Thieme Verlag Stuttgart 1962

72. SCHELLONG,G., WESSEL,P.
Hyperbilirubinämie durch subperiostales Kephalhämatom?
Mschr. Kinderheilk. 125 (1977) 448-449

73. SCHERMER ,S.
Blut und blutbildende Organe.
in: COHRS,P. et al. (Hrsg.)
Pathologie der Laboratoriumstiere. I.
Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1958

74. SCHMID,R., AXELROD,J., HAMMAKER,L., SWARM,R.L.
Congenital jaundice in rats, due to a defect in glucuronide formation.
J. Clin. Invest. 37 (1958) 1123-1130

75. SCHMID,R., HAMMAKER,L., AXELROD,J.
Metabolism and disposition of C^{14}-bilirubin in congenital nonhemolytic jaundice.
J. Clin. Invest. 42 (1963) 1720-1734

76. SCHOOLEY,J.C., REINHARDT,W.O.
Peritoneal absorption of labeled red blood cells and albumin by thoracic and right lymphatic duct routes in anesthetized rats. (abstr.)
Fed. Proc. 17 (1958) 143

77. SENDER,A., MAIGRET,P., BOESWILWALD,M., LEPAGE,F.
Circonstances d'apparition de l'ictère néo-natal sans incompatibilité sanguine.
Presse Méd. 79 (1971) 2371-2372

78. SILBERGERG,D.H., JOHNSON,L., RITTER,L.
Factors influencing toxicity of bilirubin in cerebellum tissue culture.
J. Pediat. 77 (1970) 386-396

79. SIPERSTEIN,D.M., SANSBY,J.M.
Intraperitoneal Transfusion with Citrated Blood.
Am. J. Dis. Child. 25 (1923) 107-129

80. SOBOTTA,J., BECHER,H.
Atlas der Anatomie des Menschen. 3. Teil.
Urban und Schwarzenberg München - Berlin 1962 16

81. TENHUNEN,R., MARVER,H.S., SCHMID,R.
The enzymatic catabolism of hemoglobin: Stimulation of microsomal heme oxygenase by hemin.
J. Lab. Clin. Med. 75 (1970) 410-421

82. THALER,M.M., GEMES,D.L., BAKKEN,A.F.
Enzymatic Conversion of Heme to Bilirubin in Normal and Starved Fetuses and Newborn Rats.
Pediat. Res. 6 (1972) 197-201

83. TÖNDURY,G.
Angewandte und topographische Anatomie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1970[4]

84. VEST,M., STREBEL,L., HAUENSTEIN,D.
The Extent of 'Shunt'Bilirubin and Erythrocyte Survival in the Newborn Infant measured by the Administration of (^{15}N)Glycine.
Biochem. J. 95 (1965) 11 c

85. WALDEYER,A.
Anatomie des Menschen. II.
Walter de Gruyter und Co. Berlin 1970[6]

86. WALTERS,T.R., HOLDER,T.M.
Neonatal Hyperbilirubinemia and Renal Vein Thrombosis.
Amer. J. Dis. Child. 111 (1966) 433-436

87. WEILAND,A., LANGER,H.
Hyperbilirubinämie bei Neugeborenen nach Vakuumextraktion.
Geburtshilfe und Frauenheilk. 25 (1965) 320-325

88. WIESE,G.
Über die Dosis-Wirkungsrelation bei der Phototherapie zur Behandlung der neonatalen Hyperbilirubinämie.
Habilitationsschrift Freie Universität Berlin

89. WINTROBE,M.M., et al.
Clinical Hematology.
Lea and Febiger Philadelphia 1974

90. YASUNAGA,S., RIVERA,R.
Cephalhematoma in the Newborn.
Clin. Pediatr. 13 (1974) 256-260

91. YEARY,R.A., GROTHAUS,R.H.
The Gunn Rat as an Animal Model in Comparative Medicine.
Lab. Animal Science 21 (1971) 362-366

92. YIMENEZ,E.
Persönliche Mitteilung.

93. ZUELZER,W.W., BROWN,A.K.
Neonatal Jaundice. A Review.
Amer. J. Dis. Child. 101 (1961) 87-127

8. ANHANG

$$A_1(t) = \frac{a \cdot k_o}{k_o - k_1} \left(e^{-k_1 t} - e^{-k_o t} \right)$$

$$A_2'(t) = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1}{k_o - k_1} \left(e^{-k_1 t} - e^{-k_o t} \right) - (k_2 + k_3) \cdot A_2 + k_4 \cdot A_3$$

$$A_2''(t) = - \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^2}{k_o - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{a \cdot k_o^2 \cdot k_1}{k_o - k_1} e^{-k_o t} - (k_2 + k_3) \cdot A_2'(t) + k_4 \cdot A_3'(t)$$

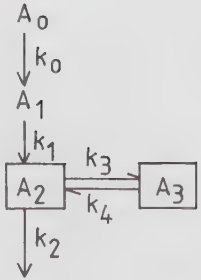
$$A_2''(t) = - \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^2}{k_o - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{a \cdot k_o^2 \cdot k_1}{k_o - k_1} e^{-k_o t} - (k_2 + k_3) \cdot A_2'(t) + k_4 (k_3 \cdot A_2(t) - k_4 \cdot A_3(t))$$

$$A_2'''(t) = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^3}{k_o - k_1} e^{-k_1 t} - \frac{a \cdot k_o^3 \cdot k_1}{k_o - k_1} e^{-k_o t} - (k_2 + k_3) \cdot A_2''(t) + k_3 \cdot k_4 \cdot A_2'(t) - k_4^2 \cdot A_3'(t)$$

$$k_4 \cdot A_3'(t) = A_2''(t) + \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^2}{k_o - k_1} e^{-k_1 t} - \frac{a \cdot k_o^2 \cdot k_1}{k_o - k_1} e^{-k_o t} + (k_2 + k_3) \cdot A_2'(t)$$

$$A_2'''(t) = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^3}{k_o - k_1} e^{-k_1 t} - \frac{a \cdot k_o^3 \cdot k_1}{k_o - k_1} e^{-k_o t} - (k_2 + k_3) \cdot A_2''(t) + k_3 k_4 \cdot A_2'(t) - k_4 \cdot A_2''(t) - \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^2 \cdot k_4}{k_o - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{a \cdot k_o^2 \cdot k_1 \cdot k_4}{k_o - k_1} e^{-k_o t}$$

$$- k_4 (k_2 + k_3) \cdot A_2'(t)$$



$$A_2'''(t)+(k_2+k_3+k_4)\cdot A_2''(t) + k_2k_4\cdot A_2'(t)= \frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\,(k_1^2\cdot e^{-k_1t} - k_o^2\cdot e^{-k_ot} - k_1k_4\cdot e^{-k_1t} + k_ok_4\cdot e^{-k_ot})$$

$$= \frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\,(k_1(k_1-k_4)\cdot e^{-k_1t} + k_o(k_4-k_o)\cdot e^{-k_ot})$$

$A_2'''(t) + B\cdot A_2''(t) + k_2k_4\cdot A_2'(t) = 0$ homogener Anteil mit $B = k_2 + k_3 + k_4$

$$\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\,(k_1(k_1-k_4)\cdot e^{-k_1t} + k_o(k_4-k_o)\, e^{-k_ot}) = 0$$ inhomogener Anteil

Lösen des inhomogenen Anteils

$$A_i = C_1\cdot e^{-k_ot} + C_2\cdot e^{-k_1t}$$

$$A_i' = -k_o\cdot C_1\cdot e^{-k_ot} - k_1\cdot C_2\cdot e^{-k_1t}$$

$$A_i'' = +k_o^2\cdot C_1\cdot e^{-k_ot} + k_1^2\cdot C_2\cdot e^{-k_1t}$$

$$A_i''' = -k_o^3\cdot C_1\cdot e^{-k_ot} - k_1^3\cdot C_2\cdot e^{-k_1t}$$

$$-k_o^3 \cdot C_1 e^{-k_o t} - k_1^3 \cdot C_2 \cdot e^{-k_1 t} + B \cdot k_o^2 \cdot C_1 \cdot e^{-k_o t} + B \cdot k_1^2 \cdot C_2 \cdot e^{-k_1 t} - k_o k_2 k_4 \cdot C_1 \cdot e^{-k_o t} - k_1 k_2 k_4 \cdot C_2 \cdot e^{-k_1 t} = \cdots\cdots$$

$$k_o^3 \cdot C_1 + B \cdot k_o^2 \cdot C_1 - k_o k_2 k_4 \cdot C_1 - \frac{a \cdot k_o \cdot k_1 (k_o (k_4 - k_o)) e^{-k_o t}}{k_o - k_1} = (k_1^3 \cdot C_2 - B \cdot k_1^2 \cdot C_2 - B \cdot k_1^2 \cdot C_2 + k_1 k_2 k_4 \cdot C_2 + \frac{a \cdot k_o \cdot k_1 (k_1 (k_1 - k_4))}{k_o - k_1}) e^{-k_1 t}$$

$$C_1 (B \cdot k_o^2 - k_o^3 - k_o \cdot k_2 \cdot k_4) = + \frac{a \cdot k_o^2 \cdot k_1 (k_4 - k_o)}{k_o - k_1} \qquad C_1 = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1 (k_4 - k_o)}{(k_o - k_1)(B \cdot k_o - k_o^2 - k_2 \cdot k_4)}$$

$$C_2 (B \cdot k_1^2 - k_1^3 - k_1 \cdot k_2 \cdot k_4) = + \frac{a \cdot k_o \cdot k_1^2 (k_1 - k_4)}{k_o - k_1} \qquad C_2 = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1 (k_1 - k_4)}{(k_o - k_1)(B \cdot k_1 - k_1^2 - k_2 \cdot k_4)}$$

$$A_{2\ \text{inhomo}} = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1}{(k_o - k_1)} \left(\frac{k_4 - k_o}{B\ k_o - k_o^2 - k_2 \cdot k_4} \cdot e^{-k_o t} + \frac{k_1 - k_4}{B\ k_1 - k_1^2 - k_2\ k_4} \cdot e^{-k_1 t} \right)$$ inhomogener Anteil

Lösen des homogenen Anteils:

$$A_2'''(t) + B \cdot A_2''(t) + k_2 k_4 \cdot A_2'(t) = 0$$

$$A_2''(t) + B \cdot A_2'(t) + k_2 k_4 \cdot A_2(t) = \beta$$

$$\tilde{A}_i(t) = \frac{\beta}{k_2 \cdot k_4}$$ Lösung des inhomogenen Anteils

Lösen des homogenen Anteils

$$A_2''(t) + B \cdot A_2'(t) + k_2 k_4 \cdot A_2(t) = 0$$

Sei $A = \varepsilon \cdot e^{\lambda \cdot t}$; $A' = \lambda \cdot \varepsilon \cdot e^{\lambda \cdot t} = \lambda \cdot A$; $A'' = \lambda^2 \cdot A$

Man setzt ein:

$$\lambda^2 \cdot A + B \cdot \lambda \cdot A + k_2 k_4 \cdot A = 0 \quad | : A$$

$$\lambda^2 + B \cdot \lambda + k_2 k_4 = 0$$

$$\lambda_{1,2} = -\frac{B}{2} \pm \sqrt{\left(\frac{B}{2}\right)^2 - k_2 k_4}$$

$$A = \gamma \cdot e^{\lambda_1 t} + \delta \cdot e^{\lambda_2 t}$$

Allgemeine Lösung:

$$A_2(t) = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1}{k_o - k_1} \left(\frac{k_4 - k_o}{B \cdot k_o - k_o^2 - k_2 k_4} \cdot e^{-k_o t} + \frac{k_1 - k_4}{B \cdot k_1 - k_1^2 - k_2 k_4} \cdot e^{-k_1 t} \right) + \frac{\beta}{k_2 \cdot k_4} + \gamma e^{\lambda_1 t} + \delta e^{\lambda_2 t}$$

$$A_3(t)=\frac{1}{k_4}\left[A_2'(t)-\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}(e^{-k_1t}-e^{-k_ot})+(k_2+k_3)\cdot A_2\right]$$

$$A_2'(t)=\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\left(\frac{k_o(k_o-k_4)}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}+\frac{k_1(k_4-k_1)}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_1t}\right)+\gamma\cdot\lambda_1\cdot e^{\lambda_1t}+\delta\cdot\lambda_2\cdot e^{\lambda_2t}$$

Einsetzen:

$$A_3(t)=\frac{1}{k_4}\left[\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\left(\frac{k_o(k_o-k_4)}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}+\frac{k_1(k_4-k_1)}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_1t}\right)+\gamma\cdot\lambda_1\cdot e^{\lambda_1t}+\delta\cdot\lambda_2\, e^{\lambda_2t}-\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}(e^{-k_1t}-e^{-k_ot})+\frac{a\cdot k_o\cdot k_1(k_2+k_3)}{k_o-k_1}\right.$$

$$\left.\left(\frac{(k_4-k_o)}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}+\frac{(k_1-k_4)}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_1t}\right)+\frac{\beta(k_2+k_3)}{k_2\cdot k_4}+\gamma(k_2+k_3)\cdot e^{\lambda_1t}+\delta(k_2+k_3)\cdot e^{\lambda_2t}\right]$$

$$A_3(t)=\frac{1}{k_4}\left[\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\left\{\frac{k_o^2-k_ok_4+B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4+k_2k_4-k_ok_2+k_3k_4-k_ok_3}{B\cdot k_o-k_o{}^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}+\frac{k_1k_4-k_1^2-B\cdot k_1+k_1^2+k_2k_4+k_1k_2-k_2k_4+k_1k_3-k_3k_4}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\right.\right.\quad\ldots$$

$$A_3(t)=\frac{1}{k_4}\left[\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\left\{\frac{k_ok_2+k_ok_3+k_ok_4-k_ok_4-k_ok_2-k_ok_3+k_3k_4}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}+\frac{-k_1k_2-k_1k_3-k_1k_4+k_1k_4+k_1k_2+k_1k_2-k_3k_4}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\right.\right.\quad\ldots$$

$$A_3(t)=\frac{1}{k_4}\left[\frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\left\{\frac{k_3\cdot k_4}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}-\frac{k_3\cdot k_4}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_ot}\right\}+\gamma(\lambda_1+k_2+k_3)e^{-\lambda_1t}+\delta(\lambda_2+k_2+k_3)e^{-\lambda_2t}+\frac{\beta(k_2+k_3)}{k_2\cdot k_4}\right]$$

$$A_4(t)=k_2\cdot A_2(t)$$

$$A_4(t)=\frac{a\cdot k_o\cdot k_1\cdot k_2}{k_o-k_1}\left(\frac{k_4-k_o}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_o t}+\frac{k_1-k_4}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\cdot e^{-k_1 t}\right)+\frac{\beta}{k_4}+\gamma\cdot k_2\cdot e^{+\lambda_1 t}+\delta\cdot k_2\cdot e^{+\lambda_2 t}$$

$$A_4(t)=\frac{a\cdot k_o k_1 k_2}{k_o-k_1}\left(\frac{k_o-k_4}{k_o(B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4)}\cdot e^{-k_o t}+\frac{k_4-k_1}{k_1(B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4)}\cdot e^{-k_1 t}\right)+\frac{\beta\cdot t}{k_4}+\gamma\cdot\frac{k_2}{\lambda_1}\cdot e^{\lambda_1 t}+\delta\cdot\frac{k_2}{\lambda_2}\cdot e^{\lambda_2 t}+\varepsilon$$

Bestimmungsgleichungen für $\beta, \gamma, \delta + \varepsilon$ erhält man für $t = 0$ und für $t = \infty$

$$A_2(0) = 0$$

$$A_2(0) = \frac{a\cdot k_o\cdot k_1}{k_o-k_1}\left(\frac{k_4-k_o}{B\cdot k_o-k_o^2-k_2k_4}+\frac{k_1-k_4}{B\cdot k_1-k_1^2-k_2k_4}\right)+\frac{\beta}{k_2-k_4}+\gamma+\delta=0$$

$$A_2(\infty) = \frac{\beta}{k_2\cdot k_4} = 0 \quad \Rightarrow \quad \beta = 0$$

$$A_4(\infty) = \varepsilon = a \quad \Rightarrow \quad \varepsilon = a \qquad (\text{da } \lambda_1, \lambda_2 < 0)$$

Berechnung von γ und δ aus $A_2(0) = 0$ und $A_3(0) = 0$:

Sei $$T_1 = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1}{k_o - k_1} \left(\frac{k_4 - k_o}{B \cdot k_o - k_o^2 - k_2 \cdot k_4} + \frac{k_1 - k_4}{B \cdot k_1 - k_1^2 - k_2 \cdot k_4} \right)$$

$$T_2 = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1}{k_o - k_1} \left(\frac{k_3}{B \cdot k_o - k_o^2 - k_2 \cdot k_4} - \frac{k_3}{B \cdot k_1 - k_1^2 - k_2 \cdot k_4} \right)$$

Daraus folgt:

$$\gamma + \delta = -T_1$$

$$\frac{\lambda_1 + k_2 + k_3}{k_4} \cdot \gamma + \frac{\lambda_2 + k_2 + k_3}{k_4} \cdot \delta = -T_2$$

$$\gamma = \frac{T_1(\lambda_2 + k_2 + k_3) - T_2 \cdot k_4}{\lambda_1 - \lambda_2}$$

$$\delta = \frac{T_2 \cdot k_4 - T_1(\lambda_1 + k_2 + k_3)}{\lambda_1 - \lambda_2}$$

Die gesuchte Funktion lautet:

Sei $B_o = B \cdot k_o - k_o^2 - k_2 \cdot k_4$

$B_1 = B \cdot k_1 - k_1^2 - k_2 \cdot k_4$

$$T_o = \frac{k_4 - k_o}{B_o} \qquad T_{o1} = T_o + T_1$$

$$T_1 = \frac{k_1 - k_4}{B_1}$$

$$T_3 = \frac{1}{B_o} \qquad T_{34} = T_3 + T_4$$

$$T_4 = \frac{1}{B_1}$$

$$A_2(t) = \frac{a \cdot k_o \cdot k_1}{k_o - k_1} \left[T_o \cdot e^{-k_o t} + T_1 \cdot e^{-k_1 t} + \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \left\{ \left((\lambda_2 + k_2 + k_3)\, T_{o1} - k_3 k_4 \cdot T_{34} \right) \cdot e^{\lambda_1 t} + \left(k_3 k_4 \cdot T_{34} - (\lambda_1 + k_2 + k_3) \cdot T_{01} \right) e^{\lambda_2 t} \right\} \right]$$

Rechenprogramm für den Taschenrechner HEWLETT PACKARD 41 CX

```
01  LBL "ANG 2"
02  CF 00
03  "NMP ?"
04  PROMPT
05  1
06  -
07  STO 00
08  1000
09  /
10  STO 01
11  STO 02
12  29
13  STO 03
14  LBL 00
15  RCL 03
16  2
17  +
18  STO 03
19  1
20  +
21  STO 04
22  "ZEIT ?"
23  PROMPT
24  STO IND 03
25  "KONZ ?"
26  PROMPT
27  STO IND 04
28  ISG 02
29  GTO 00
30  LBL 01
31  RCL 01
32  STO 02
33  0
34  STO 05
35  RCL 09
36  "A ?"
37  PROMPT
38  STO 09
39  RCL 10
40  "K0 ?"
41  PROMPT
42  STO 10
43  RCL 11
44  "K1 ?"
45  PROMPT
46  STO 11
47  RCL 13
48  "K3 ?"
49  PROMPT
50  STO 13
51  RCL 14
52  "K4 ?"
53  PROMPT
54  STO 14
55  RCL 16
56  "C* ?"
57  PROMPT
58  STO 16
59  RCL 15
60  "V ?"
61  PROMPT
62  STO 15
63  RCL 16
64  /
65  STO 12
66  RCL 13
67  +
68  RCL 14
69  +
70  STO 17
71  RCL 10
72  *
73  RCL 10
74  X^2
75  -
76  RCL 12
77  RCL 14
78  *
79  -
80  1/X
81  STO 18
82  RCL 14
83  RCL 10
84  -
85  *
86  STO 19
87  RCL 17
88  RCL 11
89  *
90  RCL 11
91  X^2
92  -
93  RCL 12
94  RCL 14
95  *
96  -
97  1/X
98  STO 20
99  RCL 11
100 RCL 14
101 -
102 *
103 STO 21
104 RCL 19
105 +
```

106 STO 22
107 RCL 18
108 RCL 20
109 -
110 STO 23
111 RCL 09
112 RCL 10
113 *
114 RCL 11
115 *
116 RCL 10
117 RCL 11
118 -
119 /
120 STO 24
121 RCL 17
122 2
123 /
124 CHS
125 ↗
126 X^2
127 RCL 12
128 RCL 14
129 *
130 -
131 $\sqrt{\ }$
132 +
133 STO 25
134 RCL 17
135 2
136 /
137 CHS
138 ↗
139 X^2
140 RCL 12
141 RCL 14
142 *
143 -
144 $\sqrt{\ }$
145 -
146 STO 26
147 RCL 12
148 +
149 RCL 13
150 +
151 RCL 22
152 *
153 RCL 13
154 RCL 14
155 *
156 RCL 23
157 *
158 -
159 STO 27
160 RCL 13
161 RCL 14
162 *
163 RCL 23
164 *
165 RCL 25
166 RCL 12
167 +
168 RCL 13
169 +
170 RCL 22
171 *
172 -
173 STO 28
174 29
175 STO 03
176 LBL 02
177 RCL 03
178 2
179 +
180 STO 03
181 1
182 +
183 STO 04
184 RCL IND 03
185 RCL 10
186 *
187 CHS
188 e^x
189 RCL 19
190 *
191 RCL IND 03
192 RCL 11
193 *
194 CHS
195 e^x
196 RCL 21
197 *
198 +
199 RCL IND 03
200 RCL 25
201 *
202 e^x
203 RCL 27
204 *
205 RCL IND 03
206 RCL 26
207 *
208 e^x
209 RCL 28
210 *
211 +
212 RCL 25
213 RCL 26
214 -
215 /
216 +

```
217  RCL 24
218  *
219  RCL 16
220  +
221  FS ? 00
222  R/S
223  RCL IND 04
224  -
225  X^2
226  RCL 05
227  +
228  STO 05
229  ISG 02
230  GTO 02
231  RCL 05
232  RCL 00
233  /
234  √‾
235  ∝CHI = ∝
236  ∝⊢
237  ARCL X
238  AVIEW
239  R/S
240  FS ? 00
241  GTO 03
242  GTO 01
243  LBL 03
244  ∝A =
245  ∝⊢
246  ARCL 09
247  AVIEW
248  R/S
249  ∝K1 =
250  ∝⊢
251  ARCL 11
252  AVIEW
253  R/S
254  ∝K2 =
255  ∝⊢
256  ARCL 12
257  AVIEW
258  R/S
259  ∝K3 =
260  ∝⊢
261  ARCL 13
262  AVIEW
263  R/S
264  ∝K4 =
265  ∝⊢
266  ARCL 14
267  AVIEW
268  R/S
269  GTO 01
```

Herrn Prof. Dr. Dr. G. Wiese danke ich besonders herzlich für die Überlassung des Themas, seine immerwährende Bereitschaft, auf meine Fragen einzugehen und sein förderndes Interesse am Fortschreiten meiner Arbeit.

Dank gilt auch den Tierpflegern, insbesondere Herrn A. Dinzel, für ihre Hilfe bei der Handhabung der Versuchstiere.

L E B E N S L A U F

Am 12.4.1951 wurde ich in Berlin als einzige Tochter des Arztes für Orthopädie Dr. med. Almar Sasse und dessen Ehefrau, der Schauspielerin Jutta Sasse geb. Müller, geboren.

Von 1957 bis 1963 besuchte ich die Grundschule und anschließend das Schiller-Gymnasium in Berlin, wo ich 1970 die Reifeprüfung ablegte.

Zum Wintersemester 1970/71 nahm ich an der Freien Universität Berlin das Studium der Humanmedizin auf und bestand am 2.3.1977 die ärztliche Prüfung.

Im selben Jahr schloß ich die Ehe mit dem Oberstudienrat Jörg-Peter Schmidt-Sasse. 1977 wurde unsere erste Tochter und 1981 unsere zweite Tochter geboren.

Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit - IV. Innere Abt. des Krankenhauses Neukölln, Kinderchirurgische Abteilung des Klinikums Steglitz und Kinderklinik der Freien Universität Berlin - wurde mir am 3.1.1979 die Approbation als Ärztin erteilt.

Seit Juni 1979 bin ich als Ärztin beim Jugendgesundheitsdienst für Säuglinge und Kleinkinder in Berlin-Schöneberg beschäftigt.